

Prins Leopold Instituut voor Tropische Geneeskunde
Institut de Médecine Tropicale Prince Léopold
Prince Leopold Institute of Tropical Medicine
Instituto de Medicina Tropical Principe Leopoldo

Nationalestraat, 155
B – 2000 Antwerpen

Stichting van Openbaar Nut 0410.057.701

PARASITOLOGIE HUMAINE TROPICALE

(Notes pratiques)

SEPTEMBRE 2008

Philippe Gillet - Idzi Potters - Jan Jacobs
pgillet@itg.be , ipotters@itg.be , jjacobs@itg.be

TABLE DES MATIERES

NOTE SUR LA TAXINOMIE UTILISÉE DANS CES NOTES DE COURS :

Chaque espèce fait partie d'un genre. Celui-ci occupe une place déterminée au sein d'une famille, d'un ordre, d'une classe et d'un embranchement (phylum). Les noms donnés aux classes et aux familles ne sont pas toujours ceux recommandés par la Nomenclature Zoologique Internationales (Classification du Comité de Nomenclature, Lévine et al., 1980), mais les dénominations les plus couramment rencontrées dans les traités de parasitologie. Cette classification a été intentionnellement choisie pour des raisons de facilité.

Les **Helminthes** présentant une importance médicale font partie de deux grands embranchements :

Le phylum **Plathelminthes** [vers aplatis, système digestif rudimentaire, peau (ou tégument) fine par lequel se fait une partie importante de l'absorption des aliments] qui comporte deux classes trouvant une place dans ce cours :

- les **Trématodes** : Corps non segmenté, hermaphrodites (sauf schistosomes)
- et les **Cestodes** : Corps segmenté, hermaphrodites, chaque segment est bisexué.

Le phylum **Némathelminthes** [vers ronds, non segmentés, système digestif complet, à sexes séparés, peau (ou cuticule) solide] avec une classe importante :

- les **Nématodes**.

Pour les **Protozoaires** [parasites unicellulaires], une classification simplifiée, plus pratique pour le diagnostic de laboratoire médical est aussi utilisée : Cette classification simplifiée repose principalement sur le type de mobilité du parasite :

- Le Groupe des **Amibes :** Déplacement à l'aide de pseudopodes, les formes parasitaires sont toujours extracellulaires.
- Le Groupe des **Flagellés :** Déplacement par un ou des flagelle(s) qui ne sont cependant pas toujours présents pour le stade de développement impliqué en pathologie humaine.
- Le Groupe des **Ciliés :** Déplacement et capture des aliments par le jeu de cils couvrant tout l'organisme.
- Le Groupe des **Sporozoaires :** Pas de mode de locomotion évident, les formes parasitaires sont généralement intracellulaires.

Pour quelques parasites, une classification n'est pas encore bien définie.

Quelques autres parasites soit bactériens, soit fongiques sont aussi abordé dans ces notes, en raison de similitudes techniques pour les mettre en évidence.

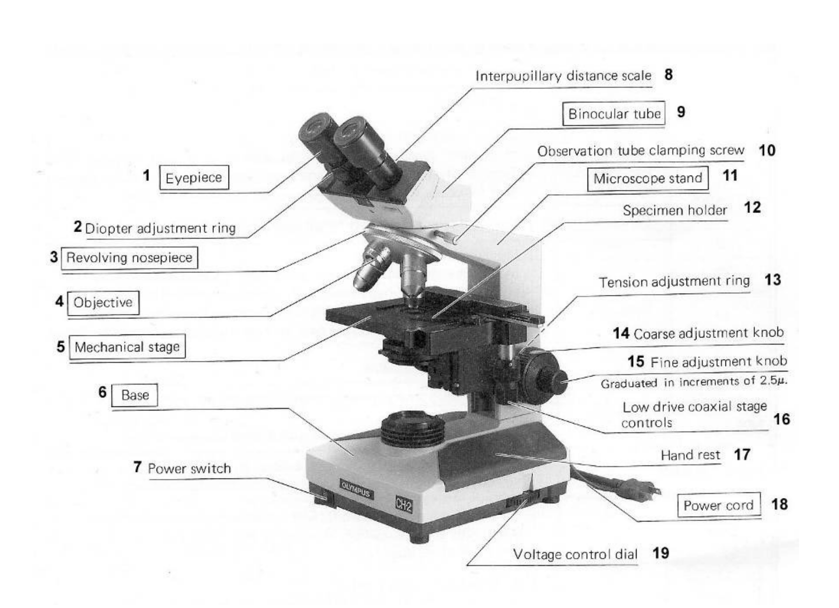
NOTE SUR LES MESURES DONNÉES DANS LES NOTES DE COURS :

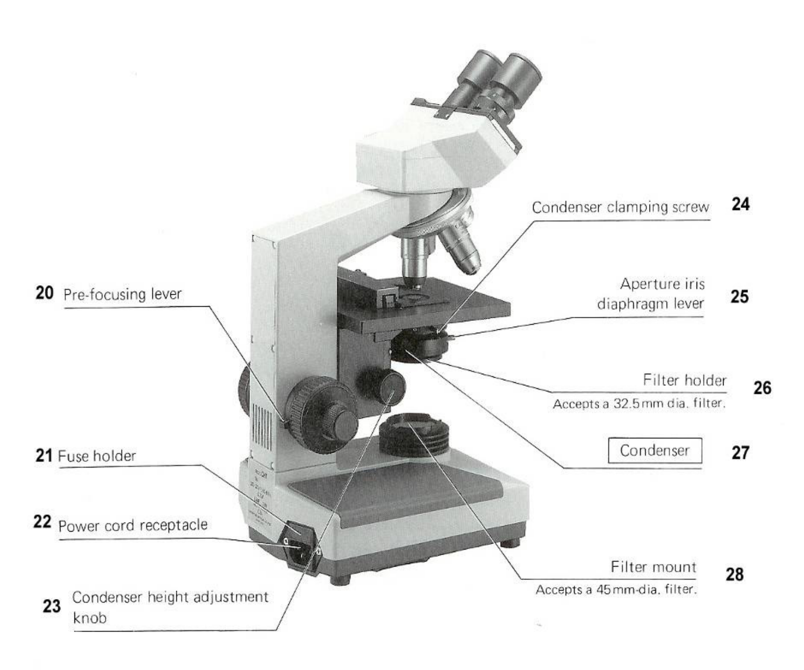
Les mesures utilisées pour les parasites dans les fiches correspondent aux dimensions minimales et maximales que l'on peut observer (Sources OMS et/ou CDC). Dans les tableaux récapitulatifs des différents parasites, les valeurs moyennes les plus couramment rencontrées sont données (Les valeurs moyennes sont bien évidemment toujours incluses entres les valeurs maximales et minimales).

INTRODUCTION A LA MICROSCOPIE

Description du microscope :

Exemple : Olympus, modèle CHK





1 Oculaires 10x (5x, 8x, 15x,…).
2 Réglage dioptrique de l'oculaire.
3 Révolver mobile porte objectif.
4 Objectifs à sec (4x, 10x, 40 x, …) ou a immersion (100 x,…).
5 Platine porte objet.
6 Socle du microscope.
7 Interrupteur électrique.
8 Echelle de l'ajustement inter-pupillaire.
9 Tube binoculaire (tête).
10 Vis de fixation de la tête du microscope.
11 Statif.
12 Chariot pour fixer la préparation sur la platine et pour la bouger dans les deux dimensions de la platine.
13 Ajustement de la force à exercer sur les vis de réglage micro- et macro-métrique.
14 Vis de réglage macrométrique (mise au point grossière de l'image).
15 Vis de réglage micrométrique (mise au point fine de l'image).
16 Vis de réglage du déplacement du chariot.
17 Repose main.
18 Cordon électrique.
19 Réglage de l'intensité de la lampe (Potentiomètre).
20 Réglage du pré-focus.
21 Porte fusible.
22 Réceptacle du câble électrique.
23 Vis de réglage de la hauteur du condensateur.
24 Vis de fixation du condensateur.
25 Réglage de l'ouverture du diaphragme.
26 Porte filtre.
27 Condensateur.
28 Source de lumière : Lampe avec porte filtre (ou miroir).

Réglage de base du microscope :

Objectif	Position du condensateur	Diaphragme	Huile à immersion	Position du Miroir	Limites et usages
10x	Basse	+/- fermé	Non	Plat	**30 - 500 µm** • Recherche des œufs, des larves et des ciliés. • (Entomologie). • …
40x	Intermédiaire	+/- ouvert	Non	Plat	**5 - 30 µm** • Détails des œufs, des larves et des ciliés. • Recherche de certains protozoaires à frais. • (Hématologie à frais). • …
100x	Haute	Ouvert	Oui	Concave	**0.25 - 5 µm** • Préparations colorées, y compris pour la recherche de certains protozoaires. • …

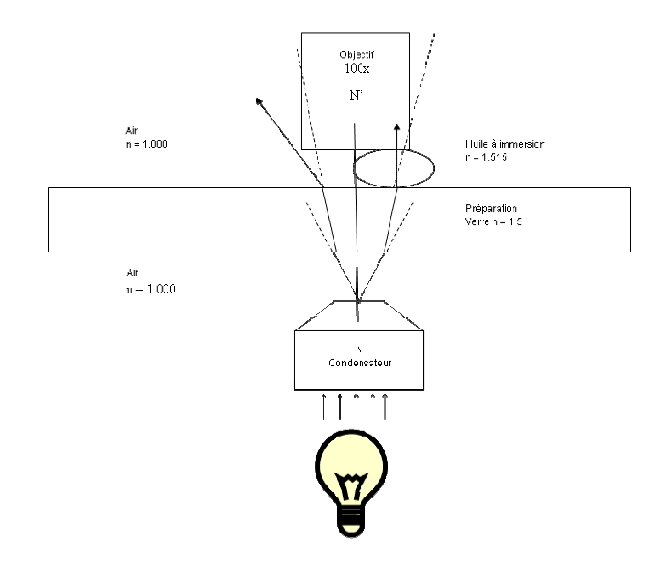
Objectif à immersion :

Les rayons lumineux qui traversent le système optique du microscope rencontrent différents milieux (air, verre, etc.), avec des indices de réfraction différents. En passant d'un milieu à un autre, ces rayons seront déviés et éventuellement perdus dans le système. [Le même phénomène se passe pour un bâton partiellement immergé dans de l'eau qui apparaît comme brisé, parce que les rayons lumineux passant d'un milieu (eau) à l'autre (air) sont réfractés (déviés) de leur chemin original]. Le degré de déviation dépend du pouvoir réfractant du milieu, appelé indice de réfraction, dont le symbole est « n ». L'indice de réfraction est déterminé par la loi de Snell. Quelques valeurs typiques sont données ci-dessous :

- Air : n = 1.000
- Eau : n = 1.330
- Verre à vitre normal : n = 1.500
- Huile à immersion : n = 1.515
- Baume du Canada (milieu de montages microscopiques) : n = environ 1.5

Les grossissements puissants (50x, 100x) nécessitent une grande quantité de lumière. Pour éviter une perte de lumière, on utilise alors une huile spéciale avec un indice de réfraction élevé que l'on place entre la préparation et l'objectif.

La ligne NN' représente « la normale » du système optique (microscope). Lorsqu'un rayon lumineux passe d'un milieu à un autre avec un indice de réfraction moins élevé que l'indice de réfraction précédent, il s'écarte de la normale NN' [partie gauche du dessin]. Si le deuxième indice de réfraction est plus élevé, le rayon lumineux se rapproche de la normale [partie droite du dessin]. L'utilisation d'huile permet ainsi de gagner de la lumière et d'améliorer la résolution optique.



Entretien et maintenance d'un microscope :

Le microscope, même le plus simple, est un instrument merveilleux, fruit de recherches de nombreux savants au cours des siècles. Il n'a cessé d'évoluer pour atteindre aujourd'hui une quasi perfection. Il comprend des parties mécaniques d'une très grande précision et des optiques tout aussi fragiles. Référez-vous à son mode d'emploi fourni, pour connaître la manière spécifique de le déplacer et de l'entretenir.

Le microscope est le principal outil de laboratoire en situation d'isolement. Il permet de diagnostiquer de nombreuses infections bactériennes (tuberculose, méningites,…), parasitaires (trypanosomiases, paludisme,…) et apporte aussi un aide au diagnostic (par la numération et l'identification des cellules dans les échantillons biologiques par exemple).

Le microscope est également un instrument relativement coûteux qui mérite toute notre attention.

La qualité et la sensibilité des examens de laboratoire dépendent en grande partie de l'état du microscope. Un microscope bien entretenu permettra donc d'obtenir des résultats de qualité.

Les trois grands ennemis sont la **poussière**, **l'humidité** et les **chocs**. Certains climats sont particulièrement nuisibles à l'instrument de précision qu'est le microscope. La poussière ou les vents de sables peuvent pénétrer les parties les plus délicates de la mécanique. Par ailleurs l'humidité excessive produira des moisissures sur les surfaces optiques du verre. Pour éviter ces problèmes, Il est important de ne pas utiliser des housses en matière plastique mais en tissu clair pour que le microscope puisse « respirer » et « recevoir » la lumière (en coton par exemple que l'on pourra laver régulièrement). Ces housses seront suffisamment grandes afin de pouvoir « border » l'appareil qui sera placé dans un endroit bien aéré, voir ventilé. En saison humide, le rangement des appareils dans des armoires est à proscrire si l'on veut éviter les moisissures, sauf si ces armoires sont ventilées et chauffées, ou asséchées par des absorbeurs d'humidité régulièrement régénérés (cristaux de silicagel, avec indicateur de saturation). La climatisation n'est une solution que si elle est permanente (condensation avec les sautes de température). Régler la climatisation sur une température pas trop froide pour éviter de trop grands écarts de température lors des arrêts ou des coupures de courant.

Quelques règles de bases permettront de livrer des résultats de qualité durant de nombreuses années :

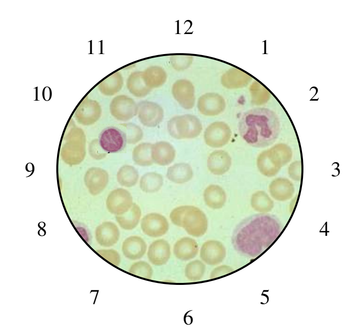
- Pour les microscopes électriques, diminuer l'intensité lumineuse au maximum (potentiomètre) avant d'éteindre le microscope (interrupteur). Ceci permet de prolonger la durée de vie de la lampe.
- Prévoir une (des) lampe(s) de rechange. Conserver précieusement les caractéristiques et les fournisseurs de la lampe.
- A la fin du travail, éliminer l'huile de l'objectif à immersion à l'aide d'un papier doux (un papier hygiénique doux non pelucheux peut être utilisé). L'huile durci en séchant et rend l'image trouble. En cas de dépôt d'huile, il est possible de nettoyer l'objectif à immersion en imbibant très légèrement un papier doux avec très peu de xylène (ou d'un mélange alcool/éther 1/1 v/v) puis essuyer avec un papier doux sec.
- Les autres lentilles seront aussi nettoyées avec un autre papier doux (éviter tout contact entre les autres lentilles et l'huile). **Certaines lentilles synthétiques ne résistent pas aux solvants organiques : Vérifier le(s) type(s) de solvant(s) utilisable(s) pour chaque microscope dans leurs notices d'utilisation.**
- Ne jamais laisser le tube sans oculaires : Les poussières et les spores de champignons pourraient entrer dans le tube.
- Eliminer la poussière à l'aide d'un petit pinceau et d'une poire en caoutchouc.
- Recouvrir le microscope de sa housse et ranger le en fonction des conditions locales.
- Protéger le microscope des chocs. En cas de transport, utiliser une boite prévue à cet effet, en y fixant bien le microscope.

Localisation d'un élément dans un champ microscopique :

Le champ microscopique est l'image circulaire observée à travers un microscope. En considérant le champ microscopique comme un cadran de montre, la division des heures permet de localiser un objet :

Exemples :

L'élément au centre est un globule rouge.
A 1 heure se situe une plaquette sanguine entre deux globules rouges.
L'élément à 2 heures est un neutrophile.
L'élément entre 4 et 5 heures est un monocyte.
L'élément entre le centre et 10 heures est un lymphocyte.
L'élément sur le bord à 8 heures est une partie de lymphocyte.

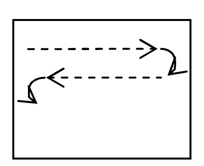


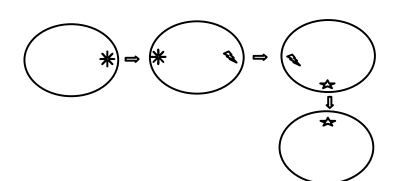
Examen systématique d'une préparation :

La recherche des œufs et des larves d'helminthes (et des formes végétative des ciliés) se fait à l'objectif 10 x. **La totalité de la préparation** est systématiquement examinée. Un examen systématique se fait en regardant une préparation champ après champ, puis bande après bande, sans laisser d'espace entre les champs ou les bandes.
On commence l'examen dans un coin de la préparation (par exemple le coin supérieur gauche). Après avoir observé ce premier champ, on prend un repère à 3 heures. On bouge la préparation latéralement jusqu'à ce que ce repère se retrouve à 9 heures et ainsi de suite jusqu'à l'extrémité de la préparation. On prend alors un repère à 6 heures et l'on bouge la préparation en sorte qu'il se trouve à 12 heures et l'on repart dans l'autre sens. On continue ainsi jusqu'à avoir examiné toute la préparation.

Pour la recherche de parasites au 40 x (certains protozoaires), le même principe est utilisé, mais en se limitant à 3 lignes contiguës.

Pour des préparations colorées, la préparation entière n'est pas examinée. La partie examinée doit cependant former une surface contiguë sans espace entre les champs examinés.





Calibration du microscope :

Principe :

La taille est un critère important de détermination de nombreux parasites, tout particulièrement lorsqu'il s'agit de kystes de protozoaires ou d'œufs d'helminthes. Il est possible d'avoir une première estimation de la taille par comparaison avec le diamètre du champ microscopique observé : En divisant le champ de vision des oculaires par le grossissement des objectifs, on obtient le vrai diamètre du champ microscopique observé. On ne tient pas compte du grossissement des oculaires, mais on doit tenir compte du facteur de tube. Le diamètre vrai obtenu doit encore être divisé par le facteur tube pour obtenir le diamètre du champ observé en mm.
Le champ de vision (field of view) indique le diamètre en mm de l'image intermédiaire dans l'oculaire (c'est-à-dire le diamètre du diaphragme circulaire qui limite l'image et se trouve approximativement au milieu de l'oculaire. Il est indiqué généralement sur l'oculaire, juste après le grossissement (exemples : 10x/**25**, 10x/**20,** 6x/**20**,…). Le facteur de tube est une caractéristique du microscope (la plupart du temps = 1, à vérifier dans la manuel d'utilisation du microscope).

Exemple : des oculaires 10x/22 sont utilisés avec un objectif 10 x sur un microscope avec un facteur de tube de 1. Cette combinaison fournit un champ objet de (22 :10):1 = 2.2 mm

Soit pour nos microscopes Olympus CH2 (facteur de tube = 1) :

Oculaires	Objectifs	Diamètre du champ microscopique observé
10x 18L	4 x	4.5 mm
10x 18L	10 x	1.8 mm
10x 18L	40 x	0.45 mm
10x 18L	100 x	0.18 mm

Il est également possible d'avoir une première estimation de la taille d'un parasite par comparaison avec un élément de taille connu (parasites comme *S. mansoni* ou *T. trichiura*, globules rouges, etc.).

Pour mesurer avec précision des éléments qui se trouvent dans un champ microscopique, il est nécessaire que l'oculaire possède une échelle de mesure (micromètre oculaire). Un micromètre oculaire est un oculaire muni d'une lentille portant gravée une échelle, le plus souvent divisée en 100 graduations. Ces graduations auront une valeur différente selon le grossissement de l'objectif du microscope.

Le micromètre oculaire doit donc être calibré pour chaque objectif de chaque microscope. La calibration consiste à donner une valeur en µm pour chaque graduation et pour chaque objectif par comparaison avec une mesure de référence. La mesure de référence est un micromètre objectif (lame porte-objet en verre portant une graduation longue de 1 à 2 mm, dont les plus petites divisions sont distantes de 10 µm exactement). Vu le prix et l'usage très limité d'un micromètre objectif, il peut être remplacé, sans grande perte de précision, par une cellule de numération. Les cellules de numérations sont utilisées en hématologie pour dénombrer des éléments. Elles se retrouvent dans chaque laboratoire

Matériel nécessaire :

Microscope, micromètre oculaire, (micromètre objectif ou) cellule de numération, papier optique, huile à immersion.

Calibration d'un objectif :

1. Placer une cellule de numération (Neubauer double improved par exemple) sur la platine du microscope, et mettre la partie quadrillée de la cellule au centre du champ microscopique.

2. Enlever l'oculaire **dont la dioptrie n'est pas réglable** et remplacer le par le micromètre oculaire à étalonner.

3. Faire la mise au point.

4. Tourner l'oculaire jusqu'à ce que les graduations du micromètre oculaire soient parallèles aux lignes de la cellule de numération.

5. Ajuster le micromètre en déplaçant la platine en sorte que le trait 0 du micromètre oculaire se superpose exactement à une ligne du quadrillage central de la cellule de Neubauer. A fort grossissement, l'épaisseur des traits gravés peut être telle qu'il faille chercher à superposer soit le bord gauche soit le bord droit des traits.

6. Sans déplacer le quadrillage de la cellule de Neubauer, chercher un autre point à l'extrême droite du champ où deux autres traits se superposent exactement. Ce deuxième jeu de trait doit être le plus à droite possible du trait 0.

7. Compter le nombre de traits du micromètre oculaire entre le trait 0 et le point où le deuxième jeu de traits se superpose. Exemple pour la figure ci-dessous : 94 divisions du micromètre oculaire.

8. Compter le nombre de carrés de la cellule de Neubauer entre le trait 0 et le point où le deuxième jeu de traits se superpose. Transformer ce nombre de petits carrés en µm.
   Exemple pour la figure ci-dessous : 6 carrés de 250 µm + 5 carrés de 200 µm, soit 2.500 µm.

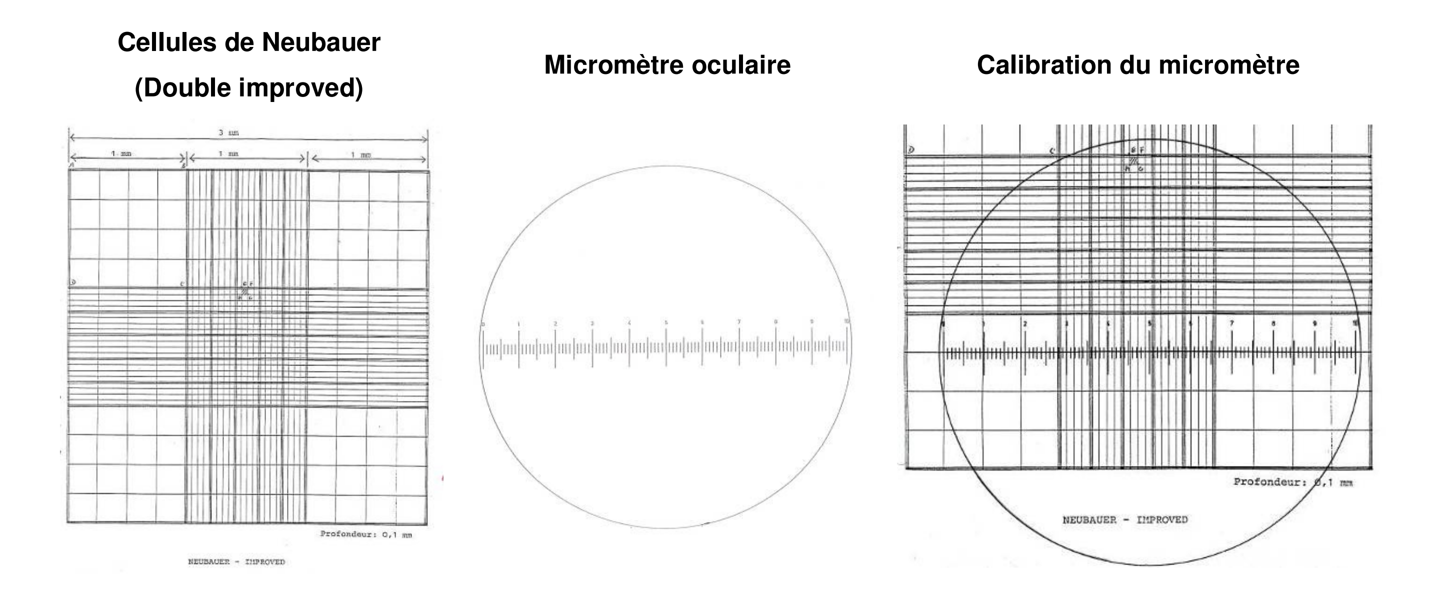
9. Calculer comme suit la longueur correspondant à une division de l'oculaire :

   94 divisions du micromètre oculaire = 2.500 µm.
   1 division du micromètre oculaire = 2.500 / 94 = 26,6 µm.

10. Répéter l'opération pour tous les objectifs.

11. L'étalonnage n'a besoin d'être fait qu'une fois pour chaque microscope. **Attention**, si le micromètre oculaire est réglable pour la dioptrie, la calibration n'est valable que pour le réglage dioptrique utilisé (en effet, la longueur du tube influence le grossissement).

Cellules de Neubauer (Double improved) | **Micromètre oculaire** | **Calibration du micromètre**



HELMINTHES
(Métazoaires)

- **TREMATODES**
- CESTODES
- NEMATODES

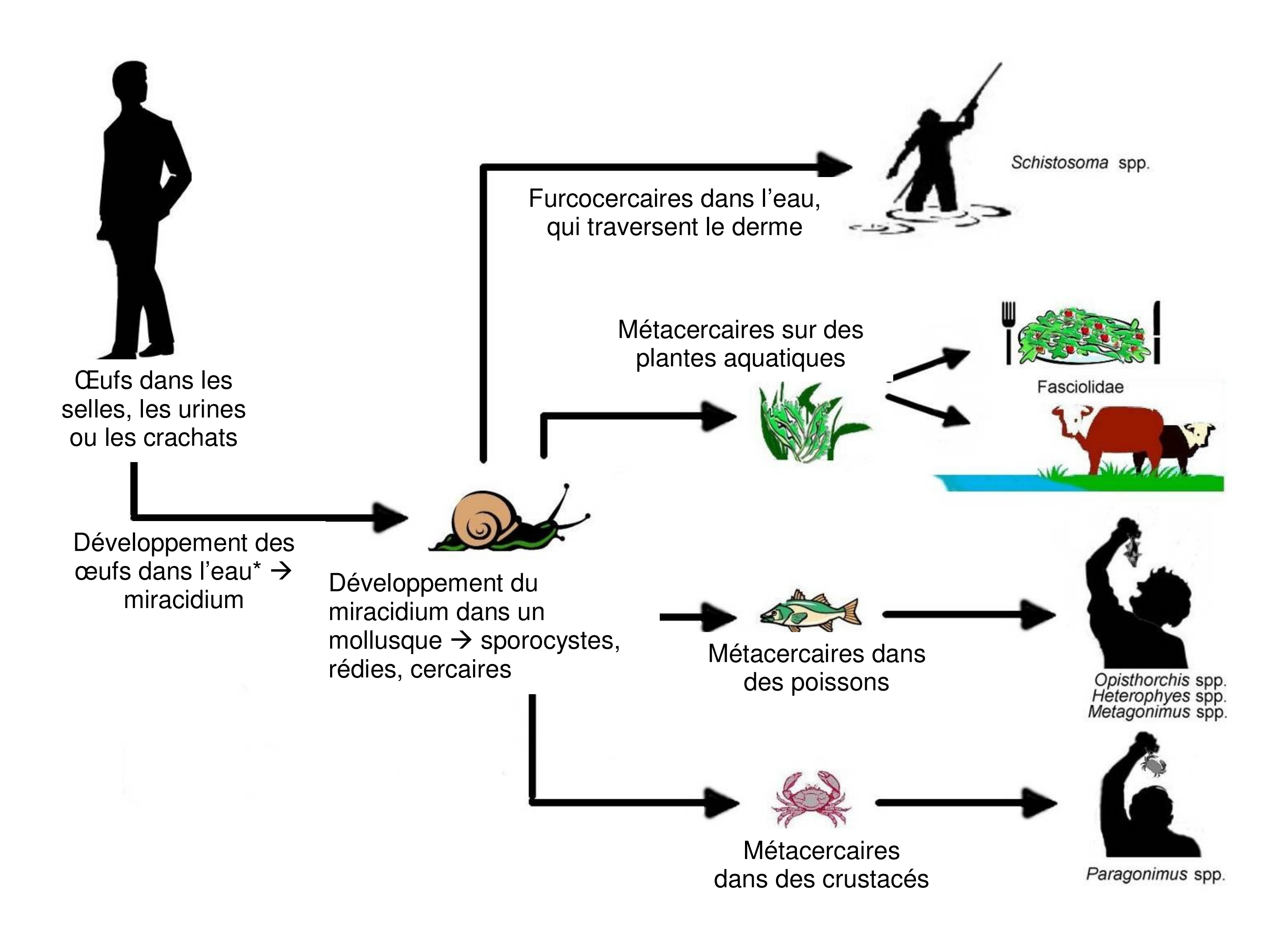
PROTOZOAIRES

- AMIBES
- FLAGELLES
- CILIES
- SPOROZOAIRES

CHAMPIGNONS
ET
BACTERIES

CLASSIFICATION
INCONNUE

RÉSUMÉ DES CYCLES POUR LES TRÉMATODES



* Sauf pour *Opisthorchis* spp., *Heterophyes* spp. et *Metagonimus* spp., pour lesquels les œufs doivent d'abords être ingérés par le mollusque, avant de libérer les miracidium.

Schistosoma mansoni

Famille : Schistosomatidae

Classe : Trématodes

Distribution géographique :

- Afrique tropicale
- Amérique tropicale
- Moyen Orient

Nom commun :

Schistosome intestinal

Pathologie :

- Bilharziose intestinale ou rectale (F)
- Intestinal or rectal schistosomiasis (En)
- Bilarciasis intestinal, Esquistosomiasis intestinal (Es)

Hôtes définitifs :

- Homme
- Rongeurs (Amérique principalement)
- Singes (Afrique principalement)

Hôtes intermédiaires :

Mollusques d'eau douce :

Biomphalaria spp.

Mode de contamination :

Transcutané par contact avec de l'eau douce contaminée par des furcocercaires (ou très exceptionnellement trans-muqueuse via de l'eau de boisson contaminée).

Localisation de l'adulte :

Veines mésentériques inférieures (gros intestin).

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des œufs dans les selles : Examen direct, technique de concentration par sédimentation, [technique de Kato-Katz : Pour enquêtes épidémiologiques].
- Recherche des œufs dans une biopsie rectale.
- Sérologie (sur base des CAA circulating anodic antigen et des CCA circulating cathodic antigen) :
  - Recherche des anticorps (différentes techniques).
  - Recherche des complexes immuns circulants (différentes techniques).
- [Recherche des antigènes dans les **URINES (**CCA, détection sur strip lateral flow through ou en ELISA)]



Morphologie des œufs :

Dimensions :	110-175 µm x 45-70 µm.
Forme :	Ovoïde ou asymétrique en forme de bouteille.
Coque :	Lisse, très fine.
Contenu :	Embryonné : miracidium (parfois mobile).
Couleur :	Gris jaune.
Caractéristiques :	Eperon latéral au-dessus du pôle arrondi.

NB : Œufs alcoolo-acido résistants (colorés en **rouge** au Ziehl-Neelsen).

Autres signes biologiques associés :

- Hyperéosinophilie sévère de l'ordre de 30 % (phase d'invasion), puis subnormale voire normale.
- Hyperleucocytose en phase prépatente.
- (Bilan des lésions : Bilan hépatique, signes d'hypertension portale).

Confusions possibles :

- Œufs des autres espèces de Schistosomes.
- Œufs de *Fasciolidae*.
- Spores de *Psorospermum haeckeli* (sporozoaire infestant les écrevisses d'Europe de l'est).

Remarques :

1. Si l'éperon n'est pas visible, il est possible de retourner l'œuf en appuyant délicatement sur la lamelle pour le faire apparaître.
2. Comme les œufs ne se libèrent pas facilement de la paroi intestinale, des examens de selles répétés ou une biopsie rectale sont à envisager.
3. Il est parfois possible de retrouver des œufs de *S. mansoni* dans les urines (ponte dans les veines vésicales). La coloration de Ziehl-Neelsen peut alors être utile.
4. Les tests sérologiques sont groupe-spécifiques. Des réactions croisées avec d'autres trématodes sont possibles. La combinaison de deux tests sérologiques pour la recherche des anticorps circulant, un test Elisa et un test IHA donne une sensibilité de l'ordre de 90 %. Les anticorps peuvent persister des années après un traitement efficace.
5. Les œufs apparaissent dans les selles 25 à 60 jours après l'infestation (période pré patente). La ponte quotidienne est de l'ordre de 100 à 300 œufs par femelle adulte. La durée de vie du ver adulte est estimée entre 2 et 18 ans.

Schistosoma japonicum

Famille : Schistosomatidae

Classe : Trématodes

Distribution géographique :

Extrême orient
(Chine, Corée, Philippines, Sulawesi, …)

Nom commun :

Schistosome Intestinal

Pathologie :

- Bilharziose artérioso-veineuse (F)
- Asiatic schistosomiasis, Katayama disease (En)
- Enfermedad de Katayama (Es)

Hôtes définitifs :

- Homme
- Animaux domestiques (chien, chat, chèvre, porc, cheval, bœuf, buffle,…)
- Animaux sauvages : (Rongeurs et carnivores)

Hôtes intermédiaires :

Mollusque amphibie d'eau douce :

Oncomelania spp.

Mode de contamination :

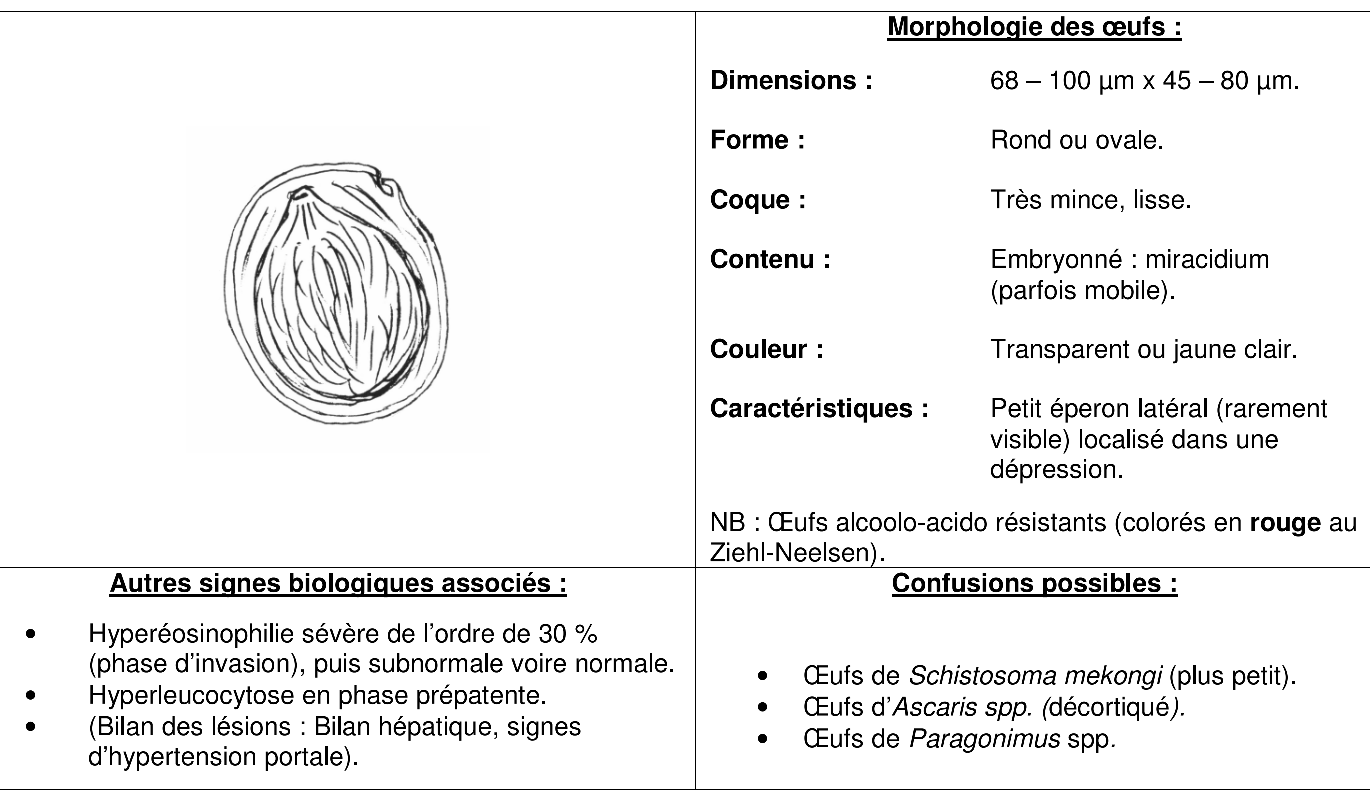
Transcutané par contact avec de l'eau douce contaminée par des furcocercaires (ou très exceptionnellement trans-muqueuse via de l'eau de boisson contaminée).

Localisation de l'adulte :

Veines mésentériques supérieures (intestin grêle).

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des œufs dans les selles : Examen direct, technique de concentration par sédimentation, [technique de Kato-Katz : Pour enquêtes épidémiologiques].
- [Recherche des œufs dans une biopsie rectale].
- Sérologie (sur base des CAA circulating anodic antigen et des CCA circulating cathodic antigen) :
  - Recherche des anticorps (différentes techniques).
  - Recherche des complexes immuns circulants (différentes techniques).
- [Recherche des antigènes dans les **URINES (**CCA, détection sur strip lateral flow through ou en ELISA).]



Morphologie des œufs :

Dimensions :	68 – 100 µm x 45 – 80 µm.
Forme :	Rond ou ovale.
Coque :	Très mince, lisse.
Contenu :	Embryonné : miracidium (parfois mobile).
Couleur :	Transparent ou jaune clair.
Caractéristiques :	Petit éperon latéral (rarement visible) localisé dans une dépression.

NB : Œufs alcoolo-acido résistants (colorés en **rouge** au Ziehl-Neelsen).

Autres signes biologiques associés :

- Hyperéosinophilie sévère de l'ordre de 30 % (phase d'invasion), puis subnormale voire normale.
- Hyperleucocytose en phase prépatente.
- (Bilan des lésions : Bilan hépatique, signes d'hypertension portale).

Confusions possibles :

- Œufs de *Schistosoma mekongi* (plus petit).
- Œufs d'*Ascaris spp.* (décortiqué).
- Œufs de *Paragonimus* spp.

Remarques :

1. La différentiation microscopique de *S. mekongi* et *S. japonicum* est très difficile (distinction géographique).
2. Les œufs de *S. japonicum* ont un éperon peu réfringent, les rendant peu caractéristiques dans un examen microscopique.
3. La technique de Kato-Katz est peu utilisable pour *S. japonicum* et S. *mekongi* (miracidium rapidement invisible et forme générale de l'œuf peu typique).
4. Il est parfois possible de retrouver des œufs de *S. japonicum* dans les urines (ponte dans les veines vésicales).
5. Les tests sérologiques sont groupe-spécifiques. Des réactions croisées avec d'autres trématodes sont possibles. La combinaison de deux tests sérologiques pour la recherche des anticorps circulant, un test Elisa et un test IHA donne une sensibilité de l'ordre de 90 %. Les anticorps peuvent persister des années après un traitement efficace.
6. Les œufs apparaissent dans les selles environ 30 jours après l'infestation. La ponte quotidienne est de l'ordre de 1.500 à 3.500 œufs par femelle adulte. Cette production élevée rend la biopsie rectale peu utile. La durée de vie du ver adulte est estimée à plus de 25 ans.

Schistosoma mekongi

Famille :	**Classe :**
Schistosomatidae	Trématodes

Distribution géographique :	**Nom commun :**	**Pathologie :**
Le long du Mékong (Laos, Cambodge, Thaïlande), Malaisie	Schistosome intestinal	• Bilharziose artérioso-veineuse (F) • Intestinal schistosomiasis, Katayama disease (En) • Enfermedad de Katayama (Es)

Hôtes définitifs :	**Hôtes intermédiaires :**	**Mode de contamination :**
• Homme • Animaux domestiques (chien, chat, chèvre, porc, cheval, bœuf, buffle,…) • Animaux sauvages : (Rongeurs et carnivores)	Mollusque d'eau douce : *Tricula aperta*.	Transcutané par contact avec de l'eau douce contaminée par des furcocercaires (ou très exceptionnellement trans-muqueuse via de l'eau de boisson contaminée). **Localisation de l'adulte :** Veines mésentériques supérieures (intestin grêle).

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des œufs dans les selles : Examen direct, technique de concentration par sédimentation, [technique de Kato-Katz : Pour enquêtes épidémiologiques].
- Recherche des œufs dans une biopsie rectale (peu utile).
- Sérologie (sur base des CAA circulating anodic antigen et des CCA circulating cathodic antigen) :
  - Recherche des anticorps (différentes techniques).
  - Recherche des complexes immuns circulants (différentes techniques).
- [Recherche des antigènes dans les **URINES (**CCA, détection sur strip lateral flow through ou en ELISA).]

Morphologie des œufs :

Dimensions :	51 – 73 µm x 39 – 66 µm.
Forme :	Rond ou ovale.
Coque :	Très mince, lisse.
Contenu :	Embryonné : miracidium (parfois mobile).
Couleur :	Transparent ou jaune clair.
Caractéristiques :	Petit éperon latéral (rarement visible) localisé dans une dépression.

NB : Œufs alcoolo-acido résistants (colorés en **rouge** au Ziehl-Neelsen).

Autres signes biologiques associés :	**Confusions possibles :**
• Hyperéosinophilie sévère de l'ordre de 30 % (phase d'invasion), puis subnormale voire normale. • Hyperleucocytose en phase prépatente. • (Bilan des lésions : Bilan hépatique, signes d'hypertension portale).	• Œufs de *Schistosoma japonicum* (plus grand). • Œufs d'*Ascaris spp. (*décortiqué*).* • Œufs de *Paragonimus* spp.

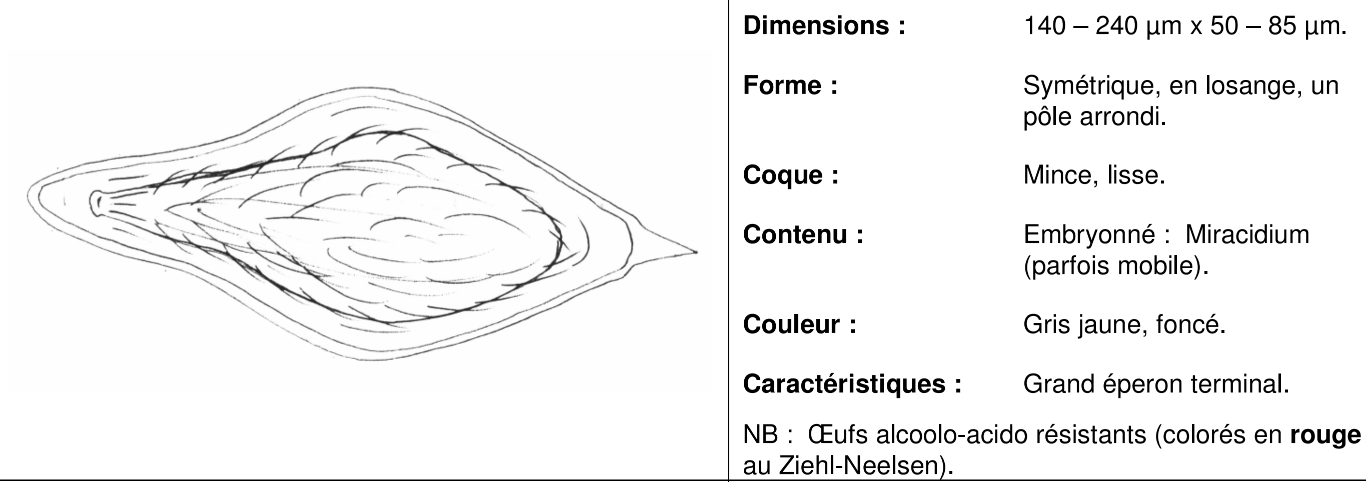
Remarques :

1. La différentiation microscopique de *S. mekongi* et *S. japonicum* est très difficile (distinction géographique).
2. Les œufs de *S. mekongi* ont un éperon peu réfringent, les rendant peu caractéristiques dans un examen microscopique.
3. La technique de Kato-Katz est peu utilisable pour *S. japonicum* et *mekongi* (miracidium rapidement invisible et forme générale de l'œuf peu typique).
4. Il est parfois possible de retrouver des œufs de *S. mekongi* dans les urines (ponte dans les veines vésicales).
5. Les tests sérologiques sont groupe-spécifiques. Des réactions croisées avec d'autres trématodes sont possibles. La combinaison de deux tests sérologiques pour la recherche des anticorps circulant, un test Elisa et un test IHA donne une sensibilité de l'ordre de 90 %. Les anticorps peuvent persister des années après un traitement efficace.
6. Les œufs apparaissent dans les selles 30 à 60 jours après l'infestation. La ponte quotidienne est de l'ordre de 1.500 à 3.500 œufs par femelle adulte. Cette production élevée rend la biopsie rectale peu utile. La durée de vie du ver adulte est estimée à plus de 25 ans.

# *Schistosoma intercalatum*		**Famille :** Schistosomatidae	**Classe :** Trématodes
Distribution géographique : **Afrique centrale** : Congo, République Centrafricaine, Gabon, Nigeria, Cameroun, Burkina Faso, Mali,... **[petits foyers limités à quelques villages].**	**Nom commun :** Schistosome intestinal	**Pathologie :** • Bilharziose intestinale ou rectale (F). • Intestinal or rectal schistosomiasis (En). • Bilharziasis intestinal (Es).	
Hôtes définitifs : • Homme • Rongeurs ?	**Hôtes intermédiaires :** Mollusques d'eau douce : *Bulinus* spp.	**Mode de contamination :** Transcutané par contact avec de l'eau douce contaminée par des furcocercaires (ou très exceptionnellement trans-muqueuse via de l'eau de boisson contaminée). **Localisation de l'adulte :** Veines rectales.	

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des œufs dans les selles : Examen direct, technique de concentration par sédimentation, [technique de Kato-Katz : Pour enquêtes épidémiologiques].
- Recherche des œufs dans une biopsie rectale.
- Sérologie (sur base des CAA circulating anodic antigen et des CCA circulating cathodic antigen) :
  - Recherche des anticorps (différentes techniques).
  - Recherche des complexes immuns circulants (différentes techniques).
- [Recherche des antigènes dans les **URINES (**CCA, détection sur strip lateral flow through ou en ELISA).]



Morphologie des œufs :

Dimensions :	140 – 240 µm x 50 – 85 µm.
Forme :	Symétrique, en losange, un pôle arrondi.
Coque :	Mince, lisse.
Contenu :	Embryonné : Miracidium (parfois mobile).
Couleur :	Gris jaune, foncé.
Caractéristiques :	Grand éperon terminal.

NB : Œufs alcoolo-acido résistants (colorés en **rouge** au Ziehl-Neelsen).

Autres signes biologiques associés :

- Hyperéosinophilie sévère de l'ordre de 30 % (phase d'invasion), puis subnormale voire normale.
- Hyperleucocytose en phase prépatente.
- (Bilan des lésions : Bilan hépatique, signes d'hypertension portale).

Confusions possibles :

- Œufs d'autres espèces de schistosomes (*S. haematobium*).
- Œufs de Fasciolidae.
- Spores de *Psorospermum haeckeli* (sporozoaire infestant les écrevisses d'Europe de l'est).

Remarques :

1. Comme les œufs ne se libèrent pas facilement de la paroi intestinale, des examens de selles répétés ou une biopsie rectale sont à envisager.
2. Il est parfois possible de retrouver des œufs de *S. intercalatum* dans les urines (ponte dans les veines vésicales). La différentiation peut se faire au Ziehl-Neelsen.
3. Il existe aussi des hybrides naturels entre *S. haematobium* et *S. intercalatum*.
4. Les tests sérologiques sont groupe-spécifiques. Des réactions croisées avec d'autres trématodes sont possibles. La combinaison de deux tests sérologiques pour la recherche des anticorps circulant, un test Elisa et un test IHA donne une sensibilité de l'ordre de 90 %. Les anticorps peuvent persister des années après un traitement efficace.
5. Les œufs apparaissent dans les selles 50 à 60 jours après l'infestation. La ponte quotidienne est de l'ordre de 150 à 400 œufs par femelle adulte. La durée de vie du ver adulte n'est pas connue.

Schistosoma haematobium

Famille :	Schistosomatidae	
Classe :	Trématodes	

Distribution géographique :

Afrique
Moyen Orient
Indes.
(Portugal : petits foyers ?)

Nom commun :

Schistosome vésical

Pathologie :

- Bilharziose vésicale (F).
- Urinary or vesical schistosomiasis (En).
- Bilharziasis urinaria (Es).

Hôtes définitifs :

- Homme
- (Singes)
- (Porcs)

Hôtes intermédiaires :

Mollusques d'eau douce :

Bulinus spp.

Mode de contamination :

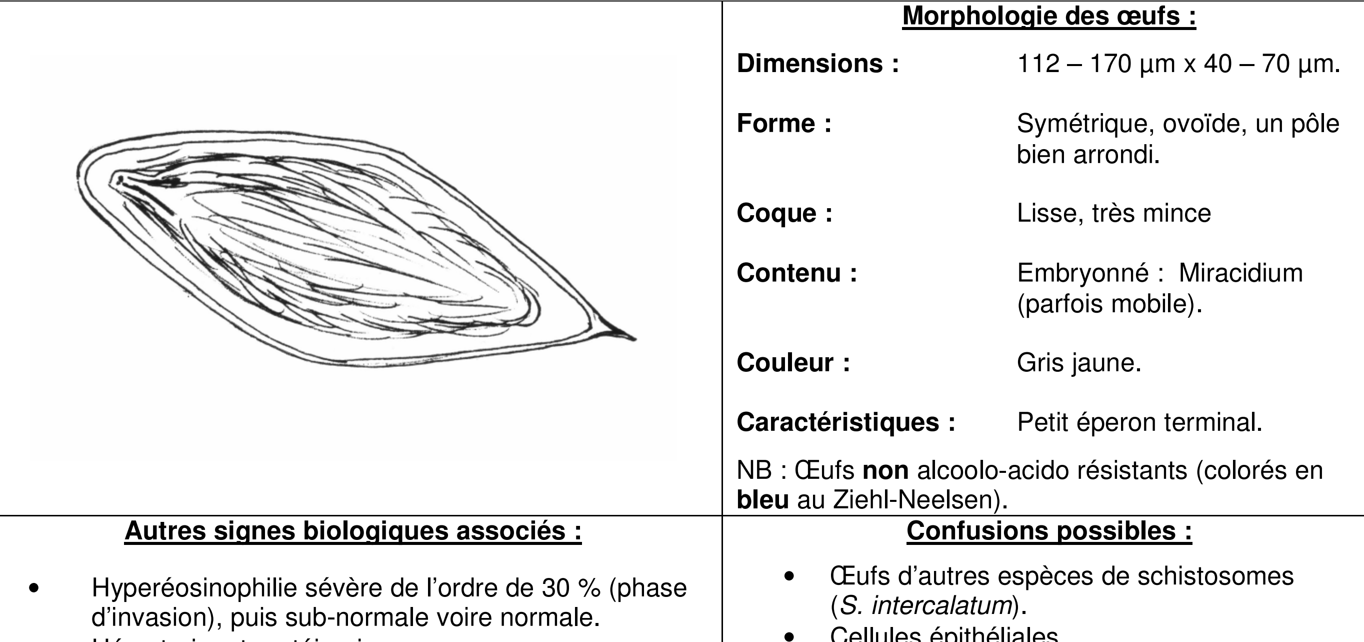
Transcutané par contact avec de l'eau douce contaminée par des furcocercaires (ou très exceptionnellement trans-muqueuse via de l'eau de boisson contaminée).

Localisation de l'adulte :

Veines du plexus vésicales.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des œufs dans les urines : **Technique de concentration par sédimentation** ou par filtration.
- Sérologie (sur base des CAA circulating anodic antigen et des CCA circulating cathodic antigen) :
  - Recherche des anticorps (différentes techniques).
  - Recherche des complexes immuns circulants (différentes techniques).
- Recherche des antigènes dans les URINES **(**CCA, détection sur strip lateral flow through ou en ELISA).



Morphologie des œufs :

Dimensions :	112 – 170 µm x 40 – 70 µm.
Forme :	Symétrique, ovoïde, un pôle bien arrondi.
Coque :	Lisse, très mince
Contenu :	Embryonné : Miracidium (parfois mobile).
Couleur :	Gris jaune.
Caractéristiques :	Petit éperon terminal.

NB : Œufs **non** alcoolo-acido résistants (colorés en **bleu** au Ziehl-Neelsen).

Autres signes biologiques associés :

- Hyperéosinophilie sévère de l'ordre de 30 % (phase d'invasion), puis sub-normale voire normale.
- Hématurie, et protéinurie.
- Hyperleucocytose en phase prépatente.
- (Bilan des lésions rénales).

Confusions possibles :

- Œufs d'autres espèces de schistosomes (*S. intercalatum*).
- Cellules épithéliales.
- Spores de *Psorospermum haeckeli* retrouvées dans les selles (sporozoaire infestant les écrevisses d'Europe de l'est).

Remarques :

1. Le nombre d'œufs présents dans les urines varie au cours de la journée et montre un pic entre 10 et 14 heures.
2. Les œufs sont plus facilement retrouvés en fin de miction. Un stress de la vessie (mouvements, gonflement) aide au décollement des œufs.
3. Même chez des patients infectés massivement, les œufs ne sont pas toujours présents dans les urines. Il peut donc être important de répéter l'examen.
4. Si les urines ne sont pas examinées rapidement, il est possible de retrouver des miracidies très mobiles.
5. Les œufs apparaissent dans les urines 6 à 8 semaines après infestation.
6. Il est parfois possible de retrouver des œufs de *S. haematobium* dans les selles (ponte dans les veines mésentériques, ou fistules). La différentiation peut se faire au Ziehl-Neelsen.
7. Il existe aussi des hybrides naturels entre *S. haematobium* et *S. intercalatum*.
8. Les tests sérologiques sont groupe-spécifiques. Des réactions croisées avec d'autres trématodes sont possibles. La combinaison de deux tests sérologiques pour la recherche des anticorps circulant, un test Elisa et un test IHA donne une sensibilité de l'ordre de 90 %. Les anticorps peuvent persister des années après un traitement efficace.
9. Les œufs apparaissent dans les urines 54 à 84 jours après l'infestation. La ponte quotidienne est de l'ordre de 20 à 300 œufs par femelle adulte. La durée de vie du ver adulte est estimée entre 3 et 7 ans.

Fasciola hepatica

Famille :	**Classe :**
Fasciolidae	Trématodes

Distribution géographique :

Cosmopolite

Nom commun :

Douve du foie

Pathologie :

- Distomatose du foie (F)
- Fasciolasis, liver fluke infection (En)
- Distomatosis hepatica (Es)

Hôtes définitifs :

- Herbivores
- Homme
- Rongeurs, porcs carnivores,…

Hôtes intermédiaires :

Mollusques amphibies d'eau douce

Lymnea spp.

Mode de contamination :

Consommation de plantes aquatiques contaminées par des métacercaires (exemple : cresson de rivière).

Localisation de l'adulte :

Voies biliaires.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des œufs dans les selles : Examen direct, technique de concentration par sédimentation.
- Recherche des œufs dans un liquide de tubage duodénal.
- Sérologie : Recherche d'anticorps dirigés contre les produits d'excrétion et de sécrétion (ES antigens).
- [Recherche de coproantigènes (ES antigens)].

Morphologie des œufs :

Dimensions :	120 – 150 µm x 63 – 90 µm.
Forme :	Ovoïde, symétrique, pôles bien arrondis. Un pôle plus effilé.
Coque :	Lisse et fine, à double ligne.
Contenu :	Jamais embryonné, masse de cellules peu nettes.
Couleur :	Jaune ou brun foncé.
Caractéristiques :	Opercule (peu visible)

Autres signes biologiques associés :

- Phase d'invasion : Hyperéosinophilie (jusqu'à 80 %), hyperleucocytose.
- Phase d'état : Hyperéosinophilie, altérations du bilan hépatique.

Confusions possibles :

- Œufs de *Fasciola gigantica*.
- Œufs de *Fasciolopsis buski*.
- Œufs de *Schistosoma* spp.
- Œufs d'acariens.

Remarques :

1. Le nombre d'œufs présent dans les selles est souvent limité. Les examens répétés, les techniques de concentration ou le tubage duodénal sont donc à envisager.
2. La distinction microscopique entre *F. gigantica*, *F. hepatica* et *Fasciolopsis buski* est presque impossible. De plus, il existerait aussi des hybrides naturels de *F. gigantica* et de *F. hepatica*. Une réponse du type présence d'œufs de Fasciolidae est donc la plus correcte.
3. Il est possible d'ouvrir, sous microscope, l'opercule de l'œuf (« œuf à la coque ») en appuyant délicatement sur la lamelle, confirmant ainsi le diagnostic de Fasciolidae.
4. Il est possible d'observer des **œufs de passage** (œufs résultant non d'une infestation, mais de la consommation de foie d'animaux contaminés par le ver adulte). Des examens de selles répétés après une diète alimentaire peuvent exclure cette hypothèse (pseudo distomatose).
5. Durant la phase d'invasion (migration des stades larvaires dans le parenchyme du foie [7 à 11 semaines]), on observe une pathologie, mais sans présence d'œufs dans les selles. Les tests sérologiques sont donc très importants durant cette période. Si la sensibilité est bonne (95 % 2 à 4 semaines après l'infestation), il existe des réactions croisées avec d'autres trématodes. Des infestations non traitées avec des douves dans les canaux biliaires peuvent cependant devenir progressivement séronégative en 1 an, vraisemblablement en raison de la suppression de la stimulation antigénique.
6. Les œufs apparaissent dans les selles 11 à 17 semaines après l'infestation. La ponte quotidienne est de l'ordre de 25.000 œufs par adulte hermaphrodite (mais peu arriveraient dans les selles [30 œufs par jours ?]]). La durée de vie du ver adulte est estimée à plus de 25 ans.

Fasciola gigantica

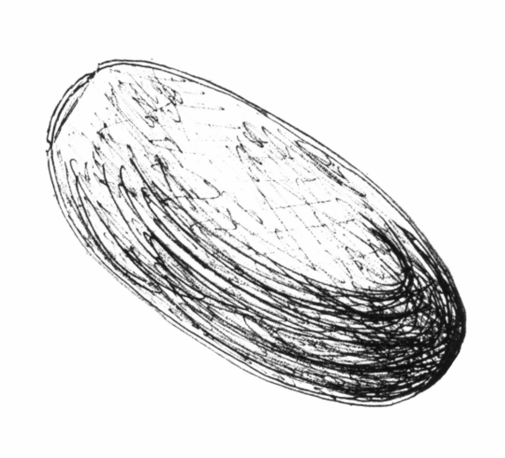
Fasciola gigantica	**Famille :** Fasciolidae	**Classe :** Trématodes

Distribution géographique :	**Nom commun :**	**Pathologie :**
Surtout en Afrique centrale et du sud. Plus rarement Pacifique de l'ouest, Haïti et Asie.	Grande douve du foie	• Distomatose du foie (F) • Fasciolasis, giant liver fluke infection (En) • Distomatosis gigantica (Es)

Hôtes définitifs :	**Hôtes intermédiaires :**	**Mode de contamination :**
• Herbivores • Homme • Rongeurs, porcs carnivores,…	Mollusques aquatiques : *Lymnea* spp.	Consommation de plantes aquatiques contaminées par des métacercaires. **Localisation de l'adulte :** Voies biliaires.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des œufs dans les selles : Examen direct, technique de concentration par sédimentation.
- Recherche des œufs dans le liquide de tubage duodénal.
- **Sérologie : Recherche d'anticorps dirigés contre les produits d'excrétion et de sécrétion (ES antigens).**
- [Recherche de coproantigènes (ES antigens)].



Morphologie des œufs :

Dimensions :	135 – 190 µm x 68 – 94 µm.
Forme :	Ovoïde, symétrique, pôles bien arrondis. Un pôle plus effilé.
Coque :	Lisse et fine, à double ligne.
Contenu :	Jamais embryonné, masse de cellules peu nettes.
Couleur :	Jaune ou brun foncé.
Caractéristiques :	Opercule (peu visible)

Autres signes biologiques associés :

- Phase d'invasion : Hyperéosinophilie (jusqu'à 80 %), hyperleucocytose.
- Phase d'état : Hyperéosinophilie, altérations du bilan hépatique.

Confusions possibles :

- Œufs de *Fasciola hepatica*.
- Œufs de *Fasciolopsis buski*.
- Œufs de *Schistosoma* spp.
- Œufs d'acariens.

Remarques :

1. Les vers adultes de *F. gigantica* sont la plupart du temps stériles, la recherche des antigènes est alors une alternative diagnostique importante.
2. Si ce n'est pas le cas, le nombre d'œufs présent dans les selles est souvent limité. Les examens répétés, les techniques de concentration ou le tubage duodénal sont donc parfois nécessaires.
3. La distinction microscopique entre *F. gigantica*, *F. hepatica* et *Fasciolopsis buski* est presque impossible (Il existerait aussi des hybrides naturels de *F. gigantica* et de *F. hepatica).* Une réponse du type présence d'œufs de *Fasciolidae* est donc la plus correcte.
4. Il est possible d'ouvrir, sous microscope, l'opercule de l'œuf (« œuf à la coque ») en appuyant délicatement sur la lamelle, confirmant ainsi le diagnostic de Fasciolidae.
5. Il est possible d'observer des **œufs de passage** (œufs résultant non d'une infestation, mais de la consommation de foie d'animaux contaminés par le ver adulte). Des examens de selles répétés après une diète alimentaire peuvent exclure cette hypothèse (pseudo distomatose).
6. Durant la phase d'invasion (migration des stades larvaires dans le parenchyme du foie [7 à 11 semaines]), on observe une pathologie, mais sans présence d'œuf dans les selles. Les tests sérologiques sont donc très importants durant cette période. Si la sensibilité est bonne (95 % 2 à 4 semaines après l'infestation), il existe des réactions croisées avec d'autres trématodes. Des infestations non traitées avec des douves dans les canaux biliaires peuvent cependant devenir progressivement séronégative en 1 an, vraisemblablement en raison de la suppression de la stimulation antigénique.
7. Les œufs apparaissent dans les selles 12 à 15 semaines après l'infestation. La ponte quotidienne retrouvée dans les selles serait de l'ordre de 30 œufs par adulte hermaphrodite. L'espérance de vie du ver adulte est estimée à plus de 11 ans.

Fasciolopsis buski

Famille : Fasciolidae

Classe : Trématodes

Distribution géographique :

Chine, Asie du sud et de l'est, continent Indien, Extrême Orient, Europe centrale

Nom commun :

Douve intestinale

Pathologie :

- Distomatose intestinale (F)
- Fasciolopsiasis, Busk's fluke infection (En)
- Distomatosis intestinal (Es)

Hôtes définitifs :

- Homme
- Porc
- Singe
- Lapin
- (Chien)

Hôtes intermédiaires :

Mollusque d'eau douce :

Hippeutis spp.,

Segmentina spp.

Mode de contamination :

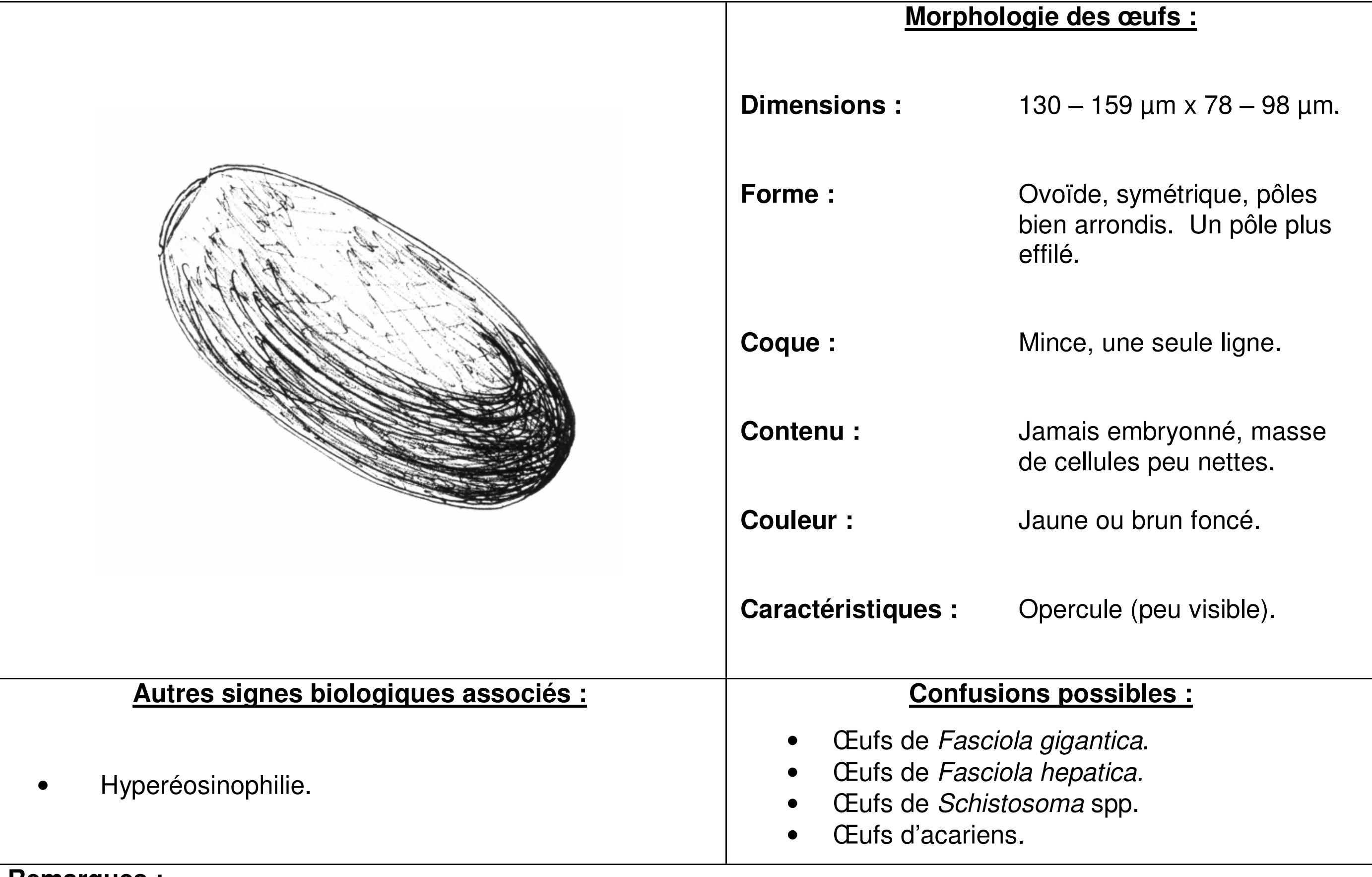
Consommation de plantes aquatiques contaminées par des métacercaires (exemple : Châtaigne d'eau).

Localisation de l'adulte :

Intestin grêle.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des œufs dans les selles : **Examen direct**, technique de concentration par sédimentation.



Morphologie des œufs :

Dimensions :	130 – 159 µm x 78 – 98 µm.
Forme :	Ovoïde, symétrique, pôles bien arrondis. Un pôle plus effilé.
Coque :	Mince, une seule ligne.
Contenu :	Jamais embryonné, masse de cellules peu nettes.
Couleur :	Jaune ou brun foncé.
Caractéristiques :	Opercule (peu visible).

Autres signes biologiques associés :

- Hyperéosinophilie.

Confusions possibles :

- Œufs de *Fasciola gigantica*.
- Œufs de *Fasciola hepatica.*
- Œufs de *Schistosoma* spp.
- Œufs d'acariens.

Remarques :

1. Ces œufs sont très similaires aux *Fasciola* spp., mais habituellement présents en grand nombre dans les selles. Cette haute production rend les techniques de concentration peu utiles.
2. La distinction microscopique entre *F. gigantica*, *F. hepatica* et *Fasciolopsis buski* est presque impossible. Une réponse du type présence d'œufs de *Fasciolidae* est donc la plus correcte.
3. Il est possible d'ouvrir, sous microscope, l'opercule de l'œuf (« œuf à la coque ») en appuyant délicatement sur la lamelle, confirmant ainsi le diagnostic de *Fasciolidae*.
4. Les œufs apparaissent dans les selles 12 à 20 semaines après l'infestation. La ponte quotidienne est de l'ordre de 16.000 œufs par ver adulte. La survie des vers adultes chez l'homme est estimée à 6 mois (contre jusqu'à 25 ans pour *F. hepatica)*. Ces infestations seraient peu (pas) symptomatiques. Dans des cas extrêmement rares, les vers adultes se localisent dans le cerveau ou le myocarde.

Clonorchis sinensis (*Opisthorchis sinensis*)

Famille : Opisthorchidae

Classe : Trématodes

Distribution géographique :

Mer de Chine : Japon, Corée, Hong-Kong, Taiwan, Chine, Kamchatka, ...

Nom commun :

Douve de Chine.

Pathologie :

- Distomatose de Chine (F)
- Chinese live fluke disease, Clonorchiasis (En)
- Distomatosis hepatica chinesco (Es)

Hôtes définitifs :

- Homme.
- Mammifères piscivores.

Hôtes intermédiaires :

1. Mollusques d'eau douce. (*Parafossarulus* spp., *Alocinma* spp., *Bithynia* spp.)
2. Poissons d'eau douce.

Mode de contamination :

Consommation de poisson infesté par des métacercaires vivantes.

Localisation de l'adulte :

Voies biliaires.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des œufs dans les selles : Examen direct, **technique de concentration par sédimentation**.
- Recherche des œufs dans le liquide d'aspiration d'un tubage duodénal (obstruction des voies biliaires).
- Recherche des anticorps sériques (ELISA).

Morphologie des œufs :

Dimensions :	26–35 µm x 12-14 µm.
Forme :	Amphore asymétrique, (ovoïde).
Coque :	Lisse, double, lignes fines.
Contenu :	Embryonné (miracidium, parfois mobile).
Couleur :	Brun jaunâtre, assez clair.
Caractéristiques :	Opercule bien visible avec une petite protubérance **non centrale** au pôle opposé.

Autres signes biologiques associés :

- Hyperéosinophilie (jusqu'à 20 %).

Confusions possibles :

- Œufs des autres espèces d'*Opisthorchis* spp.
- Les *Heterophyidae*.

Remarques :

1. Le nombre d'œufs présent dans les selles est souvent peu élevé, nécessitant des examens répétés et/ou des techniques de concentration (sédimentation).
2. Il est très difficile de distinguer microscopiquement les œufs d'*Opisthorchis sinensis* de ceux d'autres espèces de **douves hépatiques** infectant principalement les animaux *: Opisthorchis felineus* (*tenuicollis*) [Sud-est de l'Europe, Europe centrale], *Opisthorchis viverrini* [Sud-est de l'Asie, Malaisie]. La biologie et la pathologie associée à toutes ces douves hépatiques sont comparables. Une réponse du type présence d'œufs d'Opisthorchidae/Heterophyidae est donc la plus correcte.
3. Il est très difficile de distinguer microscopiquement les œufs d'*Opisthorchis sinensis* de ceux d'autres **douves dont les œufs se retrouvent dans les selles** : *Heterophyes heterophyes* [bassin méditerranéen, Moyen-Orient et Afrique occidentale], *Metagonimus yokogawai* [Extrême-Orient, partie orientale de l'ex-URSS et Espagne (?)] et 13 autres espèces d'Heterophyidae décrites [Sud et Sud-est Asiatique, Australie, îles du Pacifique, bassin méditerranéen, Sud et Est de l'Europe, Afrique Occidentale]. En raison de la courte durée de vie du stade adulte, de sa localisation et de la faible réponse immunitaire de l'hôte, les douves intestinales sont peu pathogènes.
4. La salaison ou la fumaison du poisson ne sont pas toujours suffisantes pour tuer les métacercaires.
5. Les œufs apparaissent dans les selles environ 1 à 4 semaines après l'infestation. La ponte quotidienne est de l'ordre de 1.000 à 4.000 œufs par ver adulte. La durée de vie du ver adulte est estimée jusqu'à plus de 25 ans.
6. Les tests sérologiques sont peu utiles par manque de spécificité.
7. *Clonorchis sinensis* est l'ancien nom *d'Opisthorchis sinensis*.

Paragonimus spp.

Famille : Troglotrematidae

Classe : Trématodes

Distribution géographique :

Sud–est Asiatique (Japon, Laos, Corée, Taiwan, Chine, Thaïlande, Malaisie, Philippines, Indes, Népal, …)
Afrique : Cameroun, Libéria, Nigeria, Congo, RDC, Afrique du Sud, …)
Amérique latine et du nord.

Nom commun :

Douve du poumon, Douve pulmonaire.

Pathologie :

- Distomatose pulmonaire (F)
- Oriental lung fluke disease (En)
- Distomatosis pulmonar, duela pulmonar (Es)

Hôtes définitifs :

- Homme,
- Félidés, canidés,
- Singes, mangoustes,
- Mustélidés (loutres,…)

Hôtes intermédiaires :

1. Mollusque d'eau douce : *Oncomelania* spp, *Thiaridae* spp.
2. Crustacés d'eau douce : Crabes, écrevisses, crevettes.

Mode de contamination :

Consommation de crustacés infectés par des métacercaires vivantes.

Localisation de l'adulte :

Poumons, (cerveau, autres organes).

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des œufs dans les crachats : Concentration par sédimentation après liquéfaction du crachat.
- [Sérologie : Recherche des anticorps contre *Paragonimus westermani*.]

Morphologie des œufs :

Dimensions :	68 – 118 µm x 39 – 67 µm.
Forme :	Irrégulière ou ovoïde.
Coque :	Epaisseur inégale.
Contenu :	Jamais embryonné, amas cellulaire de taille variable.
Couleur :	Brun jaune ou gris, foncé.
Caractéristiques :	Opercule (très peu visible).

Autres signes biologiques associés :

- Hyperéosinophilie (phase invasive).
- Crachats sanglants (phase chronique).

Confusions possibles :

DANS LES SELLES

- Œufs d'*Ascaris* spp. (non fécondé).
- Œufs de *Diphyllobothrium latum*.
- Œufs de *Schistosoma japonicum* ou *mekongi*.
- Œufs de Fasciolidae.

Remarques :

1. En raison du risque de production d'aérosols dangereux durant l'examen parasitologique, éliminer la possibilité d'une tuberculose avant recherche parasitologique dans un crachat.
2. La recherche des œufs dans les crachats est assez difficile, rendant la sérologie intéressante, surtout pour de faibles parasitémies. Les tests sérologiques n'ont malheureusement pas de protocole standardisé.
3. Les œufs ne se retrouvent dans les crachats que 2 à 3 mois après l'infestation. L'espérance de vie du ver adulte est estimée entre 10 et 20 ans.
4. Il est possible d'ouvrir, sous microscope, l'opercule de l'œuf (« œuf à la coque ») en appuyant délicatement sur la lamelle, confirmant ainsi le diagnostic.
5. Plusieurs parasites font un passage pulmonaire au stade larvaire (*Ascaris*, Ancylostomes, *Strongyloides*, …). **Un examen de crachats n'est cependant pas indiqué pour retrouver ces parasites**.
6. Une recherche des œufs dans les selles n'est pas indiquée (les œufs éventuellement ingérés sont trop dilués et ressemble fortement à des œufs d'Ascaris non fécondés). Par contre, si les œufs sont retrouvés dans les selles, un examen de crachat est recommandé (surtout pour exclure les confusions possibles).
7. La distinction morphologique des différentes espèces de *Paragonimus* n'est pas possible. [*P. westermani*, P. *heterotremus, P. miyazakii et P. skyrjabini* (Asie, Afrique ?, Amérique du sud ?), *P. africanus* et *uterobilateralis* (Afrique), *P. kellicotti* (Amérique du nord), *P. mexicanus* (Amérique latine), …]. Une réponse du type *Paragonimus* spp. serait donc plus correcte.

HELMINTHES
(métazoaires)

- TREMATODES
- **CESTODES**
- NEMATODES

PROTOZOAIRES

- AMIBES
- FLAGELLES
- CILIES
- SPOROZOAIRES

CHAMPIGNONS
ET
BACTERIES

CLASSIFICATION
INCONNUE

Diphyllobothrium latum

Famille : Diphyllobothriidae

Classe : Cestodes

Distribution géographique :

Cosmopolite. Plus répandu dans les régions froides et tempérées.

Europe du nord, Russie, Pologne Italie, Suisse, Sibérie, Japon, Taiwan, Philippines. Amérique du nord et du sud

Nom commun :

Ténia du pécheur

Pathologie :

- Bothriocéphalose ou diphyllobothriose (F)
- Broad fish tapeworm infection (En)
- Diphyllobotriasis (Es)

Hôtes définitifs :

- Homme.
- Mammifères piscivores.

Hôtes intermédiaires :

1. Petits crustacés : (*Cyclops* spp. et *Diatomus* spp.).
2. Poissons d'eau douce (truites, saumons,…)

Mode de contamination :

Consommation de poissons d'eau douce infestés par des larves plérocercoïdes vivantes.

Localisation de l'adulte :

Intestin.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des œufs dans les selles : **Examen direct**, (technique de concentration par sédimentation).
- (Identification de segments gravides éventuellement présents dans les selles).

Morphologie des œufs :

Dimensions :	58 – 76 µm x 40 – 51 µm.
Forme :	Ovoïde.
Coque :	Mince.
Contenu :	Jamais embryonné, masse foncée.
Couleur :	Assez foncé.
Caractéristiques :	Opercule bien visible, parfois petite protubérance (mucron) au pôle opposé.

Autres signes biologiques associés :

- Anémie mégaloblastique pernicieuse, [avitaminose B12 (5 % des cas, Finlande principalement)].
- Leucopénie, thrombocytopénie et hyperéosinophilie inconstantes (jusqu'à 30 %).
- VS élevée, hypoprotidémie, hypoalbuminémie, hypergammaglobulinémie.

Confusions possibles :

- Œufs de *Paragonimus* spp. (dans les selles).
- Œufs d'Ancylostomes.
- Œufs d'acariens.

Remarques :

1. Pas de distinction morphologique possible entre *Diphyllobothrium latum*, *Diphyllobothrium cordatum* (Europe du nord, Amérique du nord,…), *Diphyllobothrium pacificum* (Amérique du sud), … qui infestent l'homme. Plus de 50 espèces de *Diphyllobothrium* sont décrites dont 13 peuvent infestée l'homme. La réponse parasitologique correcte est donc *Diphyllobothrium* spp.
2. Comme les segments gravides du vers sont le plus souvent décomposés dans l'intestin, ils ne se retrouvent qu'exceptionnellement dans les selles. Contrairement au Taeniidae, les proglottis mûrs éventuellement retrouvés dans les selles sont plus larges que longs (2-4 mm x 10-12 mm).
3. En raison de la grande production journalière d'œufs (35.000 à 100.000 œufs par jours et par ver adulte), les techniques de concentration sont peu utiles. L'espérance de vie d'un vers adulte dans l'intestin peut aller jusqu'à 30 ans.
4. Les œufs apparaissent dans les selles environ 30 à 45 jours après l'infestation.
5. Les larves plérocercoïdes sont tuées par la congélation du poisson à -10 °C pendant 24 heures. La salaison et le fumage ne sont pas toujours suffisants pour tuer les larves.
6. La **sparganose** (ou plérocercoïdose) est une infestation dans laquelle l'homme est infesté accidentellement par des larves procercoïdes ou plérocercoïdes d'espèces de *Diphyllobothrium* n'ayant que des animaux comme hôtes définitifs (ou des espèces apparentées : *Sparganum* spp. et *Spirometra* spp.). L'homme joue alors le rôle d'hôte paraténique (hôte dans lequel le développement du parasite n'est pas complet) et les œufs ne sont jamais retrouvés dans les selles. [Assez fréquent en extrême orient ou traditionnellement des grenouilles fraîchement écorchées sont appliquées sur les yeux infectés ou les plaies].

Taenia saginata

Famille : Taeniidae

Classe : Cestodes

Distribution géographique :

Cosmopolite (rare si peu de consommation de viande de bœuf [Hindous] ou contrôles vétérinaires systématiques)

Nom commun :

Ver solitaire
ou
Ténia inerme

Pathologie :

- Téniase (F)
- Beef tapeworm infection (En)
- Teniasis (Es)

Hôtes définitifs :

- Homme

Hôtes intermédiaires :

Les bovidés :

(bœuf, buffle, zébu)

Mode de contamination :

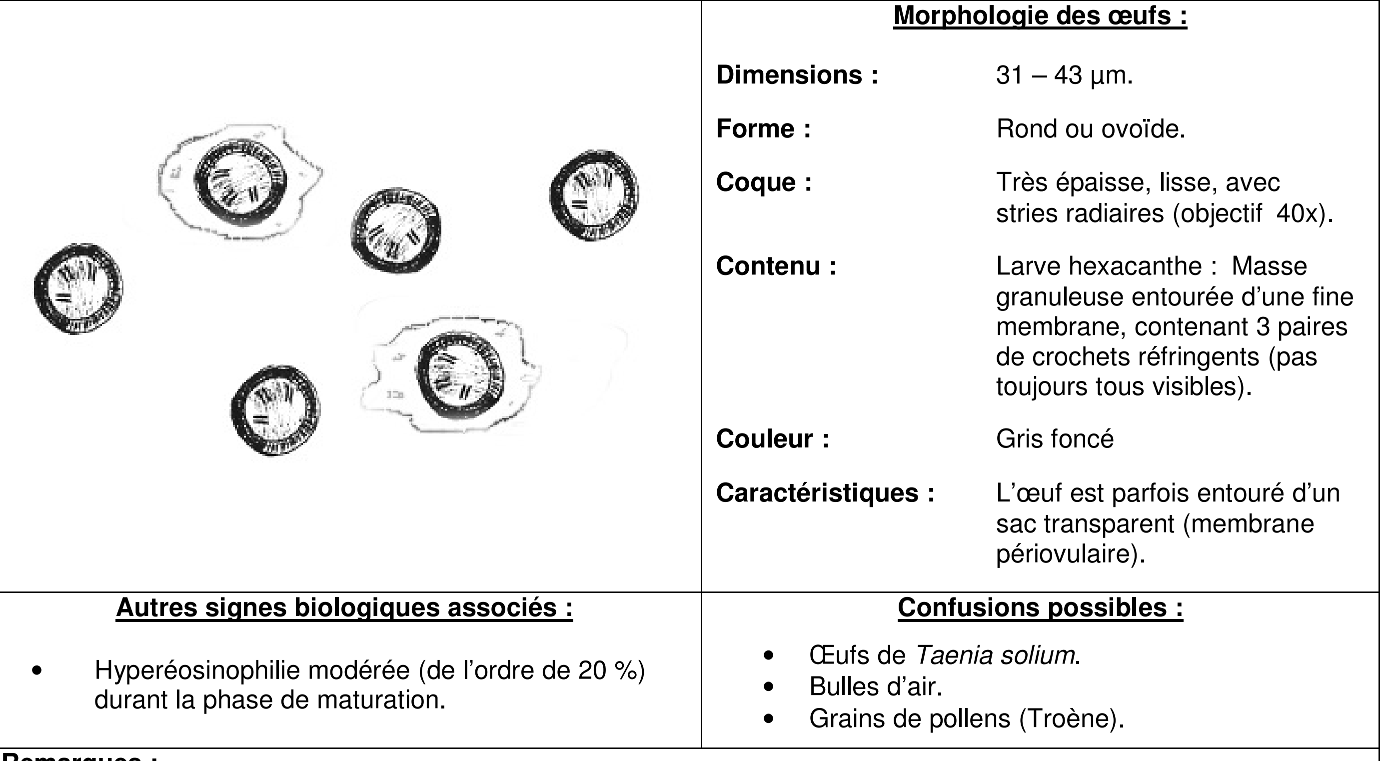
Consommation de viande de bœuf infestée par des cysticerques vivants (*Cysticercus bovis*).

Localisation de l'adulte :

Intestin grêle.

Méthodes diagnostiques :

- **Identification macroscopique de segments gravides éliminés en dehors des défécations (ou dans les selles). [cf. tableau comparatif avec *T. solium*]**
- Découverte des œufs dans les selles : Examen direct, technique de concentration par sédimentation.
- Découverte des œufs dans un scotch test anal.
- (Détection de coproantigènes en « dipstick » : Bonne sensibilité, pas de différentiation d'espèce).
- (Sérologie : Recherche d'anticorps spécifiques).
- (Recherche d'ADN spécifique par PCR sur extraits fécaux avec différentiation d'espèce).



Morphologie des œufs :

Dimensions :	31 – 43 µm.
Forme :	Rond ou ovoïde.
Coque :	Très épaisse, lisse, avec stries radiaires (objectif 40x).
Contenu :	Larve hexacanthe : Masse granuleuse entourée d'une fine membrane, contenant 3 paires de crochets réfringents (pas toujours tous visibles).
Couleur :	Gris foncé
Caractéristiques :	L'œuf est parfois entouré d'un sac transparent (membrane periovulaire).

Autres signes biologiques associés :

- Hyperéosinophilie modérée (de l'ordre de 20 %) durant la phase de maturation.

Confusions possibles :

- Œufs de *Taenia solium*.
- Bulles d'air.
- Grains de pollens (Troène).

Remarques :

1. L'examen des selles n'est pas toujours positif : Les segments gravides (ou proglottis) sont libérés intacts (même entre les défécations). Ceci est moins vrai pour *Taenia solium*. Les œufs ou les segments matures se retrouvent dans les selles environ 10 à 12 semaines après l'infestation (phase de maturation).
2. La morphologie des œufs ne permet pas de distinguer *Taenia saginata* de *Taenia solium*. D'autres cestodes du genre *Echinococcus* spp. (ver solitaire du chien,…) produisent aussi des œufs morphologiquement identiques. Ces œufs ne sont cependant jamais retrouvés chez l'homme. Seule l'identification des segments gravides (ou du scolex) permet la distinction d'espèce. La réponse parasitologique correcte pour des œufs retrouvés dans les selles est *Taenia* spp.
3. Un ver adulte est composé de +/- 200 segments. Chaque proglottis contient environ 100.000 œufs. Un adulte peut produire jusqu'à 600 millions d'œufs par an.
4. Les cysticerques sont tués par une cuisson approfondie de la viande ou une congélation de plus de 24 heures à -20°C.
5. Le terme solitaire est impropre : Plusieurs vers adultes peuvent infester un homme en même temps.
6. La longévité d'un ver adulte est estimée jusqu'à plus de 35 ans.

Taenia solium

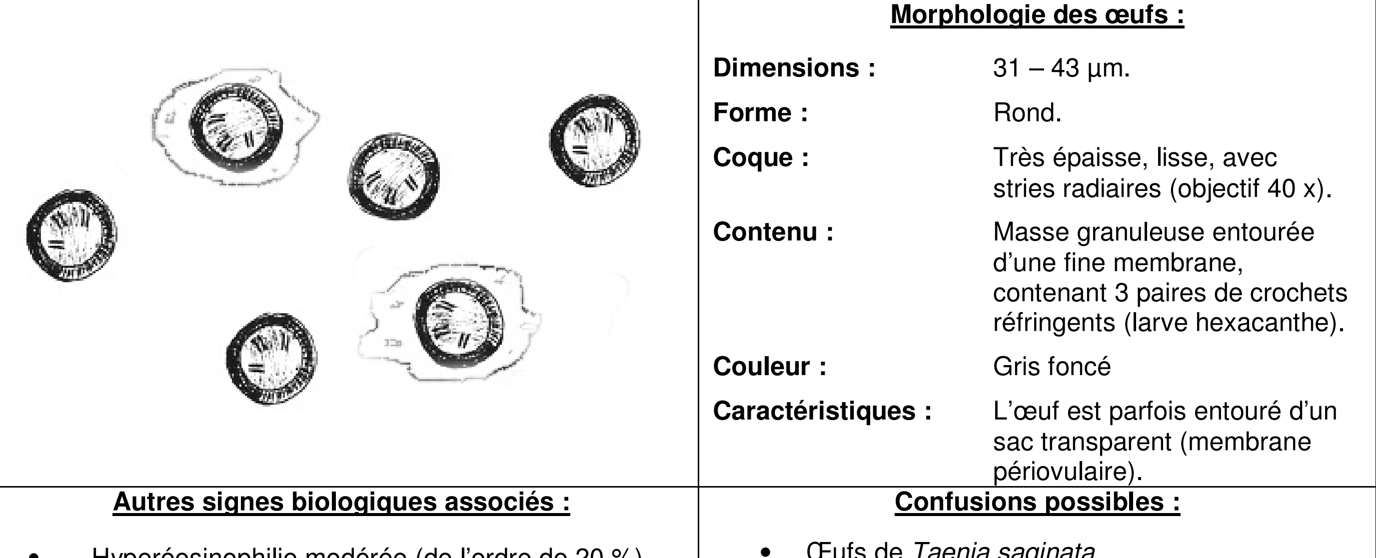
Famille :	**Classe :**
Taeniidae	Cestodes

Distribution géographique :	**Nom commun :**	**Pathologie :**
Cosmopolite (rare si peu de consommation de viande de porc [Musulmans] ou contrôles vétérinaires systématiques).	Ver solitaire ou Ténia armé	• Téniase, [cysticercose, neurocysticercose] (F) • Pork tapeworm infection, cysticercosis (En) • Teniasis, cisticercosis (Es)

Hôtes définitifs :	**Hôtes intermédiaires :**	**Mode de contamination :**
• Homme	Le porc. **L'homme (cysticercose)** Chiens, chats, ovins, primates.	• Consommation de viande de porc infestée par des cysticerques vivants (*Cysticercus cellulosae*). • Ingestion d'œufs de *Tænia solium* (contamination fécale ou anti-péristaltisme de segments gravides) ➔ cysticercose. **Localisation de l'adulte :** Intestin grêle.

Méthodes diagnostiques :

- **Identification macroscopique de segments gravides dans les selles (cf. tableau comparatif avec *T. saginata*).**
- Découverte des œufs dans les selles : Examen direct, (technique de concentration par sédimentation).
- (Découverte des œufs dans un scotch test anal).
- (Détection de coproantigènes en « dipstick » : Bonne sensibilité, pas de différentiation d'espèce).
- (Sérologie : Recherche d'anticorps spécifiques par Western Blot dans le sérum ou le LCR, uniquement pour la cysticercose).
- (Recherche d'ADN spécifique par PCR sur extraits fécaux avec différentiation d'espèce).
- Imagerie médicale (principalement utile pour la cysticercose)



Morphologie des œufs :

Dimensions :	31 – 43 µm.
Forme :	Rond.
Coque :	Très épaisse, lisse, avec stries radiaires (objectif 40 x).
Contenu :	Masse granuleuse entourée d'une fine membrane, contenant 3 paires de crochets réfringents (larve hexacanthe).
Couleur :	Gris foncé
Caractéristiques :	L'œuf est parfois entouré d'un sac transparent (membrane périovulaire).

Autres signes biologiques associés :	**Confusions possibles :**
• Hyperéosinophilie modérée (de l'ordre de 20 %) durant la phase de maturation.	• Œufs de *Taenia saginata*. • Bulles d'air. • Grains de pollens (Troène).

Remarques :

1. L'examen direct n'est pas toujours positif : Les œufs de *Tænia solium* sont plus rarement retrouvés libre dans les selles que ceux de *Tænia saginata* (segments gravides intacts expulsés par groupes de 3 à 6). Les œufs ou les segments matures se retrouvent dans les selles environ 5 à 12 semaines après l'infestation. (phase de maturation).
2. La morphologie des œufs ne permet pas de distinguer *Tænia saginata* de *Tænia solium*. D'autres cestodes du genre *Echinococcus* spp. (ver solitaire du chien,…) produisent aussi des œufs morphologiquement identiques. Ces œufs ne sont cependant jamais retrouvés chez l'homme. Seule l'identification des segments gravides (ou du scolex) permet la distinction d'espèce. La réponse parasitologique correcte pour des œufs retrouvés dans les selles est *Tænia* spp.
3. En cas de cysticercose, on retrouve dans 40 % des cas une localisation cérébrale (hyperéosinophilie). Une localisation oculaire (éosinophilie modérée) ou une localisation musculaire ou sous-cutanée plus asymptomatique sont aussi possibles. Les tests sérologiques peuvent être négatifs, surtout dans le cas d'anciennes infestations. Leur sensibilité est de l'ordre de 90 %, pour une spécificité proche de 97 %.
4. Les cysticerques sont tués par une cuisson approfondie de la viande ou une congélation de plus de 24 heures à -20°C.
5. Le terme solitaire est impropre : Plusieurs vers adultes peuvent infester un homme en même temps.
6. La longévité d'un ver adulte est estimée jusqu'à plus de 25 ans.

DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL ENTRE *TAENIA SAGINATA* ET *TAENIA SOLIUM*

Sur base du ver adulte ou de segments (proglottis) gravides

CARACTERISTIQUES	***Tænia saginata***	***Tænia solium***
Taille du ver adulte	De 5 à 10 mètres de long	De 3 à 5 mètres de long
Scolex	Entre 1 et 2 mm de large 4 ventouses Pas de Rostre, pas de crochets	De l'ordre de 1 mm de large 4 ventouses Rostre muni de crochets
Anneaux gravides : Taille Utérus (branches **unilatérales**) **Mobilité des anneaux gravides**	De 12 à 15 mm de long Très ramifié : De 15 à 32 ramifications unilatérales Ramifications fines Mobiles : (sortent spontanément de l'anus)	De 10 à 12 mm de long Peu ramifié : De 7 à 16 ramifications unilatérales Ramifications épaisses Immobiles ou peu mobiles : (expulsion avec les selles)
N.B. : **Cysticerques dans les muscles** **(ou dans le Système Nerveux Central)**	Bovins *Cysticercus bovis* Peu de cysticerques Pas de crochets **MUSCLES**	Porc (et l'**homme**) *Cysticercus cellulosae* Beaucoup de cysticerques Crochets **MUSCLES OU SNC**

Remarques :

1. Les œufs ne permettent pas de faire un diagnostic d'espèce.
2. **En raison du risque de cysticercose en cas d'ingestion d'œufs (*Tænia solium*), manipuler les vers adultes ou les segments de vers adultes avec grande prudence. Toujours manipuler les segments à l'aide d'une pince. L'usage de gants doit être systématique.**
3. Le diagnostic d'espèce se fait sur l'aspect macroscopique des segments gravides (plus rarement sur le scolex) :
   - Des proglottis très mobiles donnent un diagnostic de certitude de *Tænia saginata*.
   - En cas de proglottis immobiles ou peu mobiles, il faut se baser sur les ramifications de l'utérus (après décoloration à l'acide acétique). Peu ramifié pour *Tænia solium*, très ramifié pour Tænia *saginata*. Pour éviter les doutes en cas de 15 ou 16 ramifications unilatérales, examiner si possible plusieurs segments.

Vampirolepis nana (*Hymenolepis nana*)

Famille : Hymenolepididae	**Classe :** Cestodes	

Distribution géographique :

Cosmopolite, principalement pourtour méditerranéen, Russie, Inde et Amérique.

Nom commun :

« Ténia nain »

Petit ver solitaire

Pathologie :

- Hyménolépiase (F)
- Dwarf tapeworm infection, hymenolepiasis (En)
- Himenolepiasis (Es)

Hôtes définitifs :

- Homme
- (Rongeurs [?] : Rats, souris, …)

Hôtes intermédiaires :

Seul cestode infestant l'homme sans hôte intermédiaire

Vecteur :

Vers de farine ?

Mode de contamination :

- Ingestion des œufs.
- (ingestion de vers de farine infestés par des larves cysticercoïdes ?).

Localisation de l'adulte :

Intestin grêle.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des œufs dans les selles : **Examen direct**, technique de concentration par sédimentation.
- (Ver adulte retrouvé dans les selles)

Morphologie des œufs :

Dimensions :	40 – 60 µm x 30 – 50 µm.
Forme :	Ovoïde ou rond, symétrique.
Coque :	Mince et lisse.
Contenu :	Embryophore avec deux bouchons polaires et quelques filaments partant des bouchons.
Couleur :	Transparent, gris très clair.
Caractéristiques :	Larve hexacanthe avec crochets bien visible

Autres signes biologiques associés :

- Hyperéosinophilie modérée.

Confusions possibles :

- Œufs d'*Hymenolepis fraterna.*
- Œufs d'*Hymenolepis diminuta.*
- Grains de pollen (Orge).

Remarques :

1. *Hymenolepis nana* est l'ancien nom de *Vanpirolepis nana*.
2. Les *Hymenolepis* sp. du rat et de la souris (*Hymenolepis fraterna*) sont morphologiquement identiques : Elles ont cependant besoin d'un hôte intermédiaire (puces, blattes et vers de farine). Ces souches peuvent aussi infecter l'homme. Une réponse du type « présence d'œufs d'Hymenolepididae serait donc parasitologiquement plus correcte.
3. En raison de l'autoinfestation, on retrouve souvent une intensité parasitaire importante (surtout chez les enfants). Le nombre d'œufs retrouvé dans les selles est souvent très important, ne justifiant pas une technique de concentration.
4. Les segments gravides sont détruits au niveau intestinal, libérant les œufs qui se retrouvent dans les selles.
5. Les œufs se retrouvent dans les selles environ 20 jours après l'infestation.
6. Le ver adulte est un ver segmenté de 1,5 à 4 cm de long avec un scolex muni de 4 ventouses et de nombreux crochets. Les vers adultes ont une durée de vie estimée à quelques mois.

Hymenolepis diminuta

Famille : Hymenolepididae

Classe : Cestodes

Distribution géographique :

Cosmopolite mais **très** rare (**zoonose**). Favorisé par un habitat précaire augmentant les contacts entre les rongeurs et la nourriture humaine.

Nom commun :

Petit ver solitaire

Pathologie :

- Hyménolépiase (F).
- rat tapeworm infection, hymenolepiasis (En).
- Himenolepiasis (Es).

Hôtes définitifs :

- Rongeurs
- Homme (**Zoonose**)

Hôtes intermédiaires :

Arthropodes :

Puces des rats, vers de farines, coléoptères, scarabées.

Mode de contamination :

Ingestion de nourriture contaminée par des insectes infestés par des larves cysticercoïdes de *H. diminuta*.

Localisation de l'adulte :

Intestin grêle.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des œufs dans les selles : Examen direct, technique de concentration par sédimentation, technique de concentration par flottaison.
- (Ver adulte retrouvé dans les selles).

Morphologie des œufs :

Dimensions :	70 – 86 µm x 60 – 80 µm.
Forme :	La plupart du temps rond, rarement un peu ovoïde.
Coque :	Assez épaisse, lisse, couronne de filaments en interne
Contenu :	Embryophore sans bouchon polaire.
Couleur :	Brun, brun jaune.
Caractéristiques :	Larve hexacanthe avec crochets bien visible

Autres signes biologiques associés :

- Hyperéosinophilie modérée

Confusions possibles :

- Œufs d'*Hymenolepis nana.*
- Œufs d'*Hymenolepis fraterna.*
- Œufs d'*Ascaris lumbricoides* (œufs non fécondés et semi-décortiqués)
- Grains de pollen (crocus ou laurier)

Remarques :

1. Les segments gravides sont détruits au niveau intestinal, libérant les œufs qui se retrouvent dans les selles.
2. Le ver adulte est un petit ver segmenté de 20 à 60 cm de long avec un scolex muni de 4 ventouses (sans crochets). Les segments sont plus longs que larges.
3. Les œufs se retrouvent dans les selles environ 20 jours après l'infestation. L'espérance de vie du ver est estimée entre 5 et 7 semaines.
4. Jusqu'en 2005, moins de 100 cas d'infestation humaine par *Hymenolepis diminuta* ont été publiés.

Echinococcus granulosus

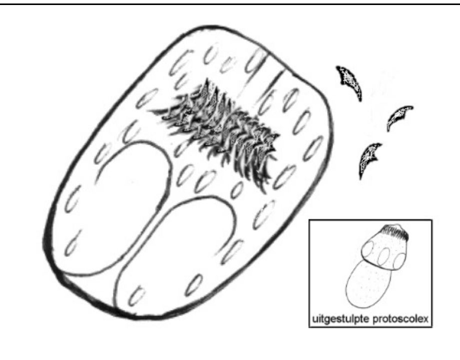
Famille :	**Classe :**
Taeniidae	Cestodes

Distribution géographique :	**Nom commun :**	**Pathologie :**
Cosmopolite, principalement dans des régions où l'élevage du mouton est important.	Kyste hydatique	• Echinococcose, hydatidose (F) • Echinococcosis, hydatid disease, hydatidosis (En) • Hidatidosis , quiste hidatídico(Es)

Hôtes définitifs :	**Hôtes intermédiaires :**	**Mode de contamination :**
• Les carnivores **(sauf l'homme)**	• Ongulés • **Homme**	Ingestion des œufs (contact avec un carnivore [chien], ou aliments souillés) **Localisation des Kystes (stades larvaires):** Foie (75 % des cas), poumons (10 %), rate (3 %), reins (2 %), muscles (5 %), cerveau et moelle épinière (3 %), os (2 %).

Méthodes diagnostiques :

- Clinique.
- Imagerie médicale.
- Sérologie : Recherche d'anticorps spécifiques :
  - **Test de dépistage** par Indirect HémAgglutination (IHA), Indirect Fluorescent Antibody Test (IFAT), ou Enzyme ImmunoAssays (EIA).
  - **Test de confirmation** par immunoblot démontrant « l'arc 5 en double diffusion »
- (Identification de protoscolex et de crochets libres dans un liquide de ponction.



Éléments retrouvés dans un kyste hydatique :

Liquide clair « eau de roche » contenant de très nombreux **protoscolex** [approximativement 170 µm x 110 µm] et **crochets libres** [approximativement 20 µm] formant le « sable hydatique »

Autres signes biologiques associés :	**Confusions possibles :**
• Hyperéosinophilie surtout en début d'évolution	• Autres échinococcoses.

Remarques :

1. **Il faut formellement déconseiller la ponction des kystes pour la détection des protoscolex et des crochets libres (risque très important d'essaimage). Cette ponction expose aussi le patient à un risque de choc anaphylactique.**
2. Les œufs des *Echinococcus* spp. (identiques à ceux de *Taenia* spp.) ne sont jamais retrouvés dans des selles humaines.
3. Une sérologie négative n'exclu pas le diagnostic (sensibilité de l'ordre de 90 %) : Anticorps indétectables en fonction de la localisation, de l'intégrité et de la vitalité des larves. La sensibilité est meilleure pour les localisations hépatiques ou osseuses que pour les autres localisations. Les patients avec des kystes calcifiés, morts ou en dégénérescence sont souvent séronégatifs.
4. La sérologie peut être faussement positive en cas d'infestation par d'autres helminthes, de cancer ou de désordres immunologiques chroniques. Une réaction faussement positive est aussi retrouvée dans 5 à 25 % des patients avec une neurocysticercose (*Taenia solium*) et pour des patients atteints par *Echinococcus multilocularis, Echinococcus vogeli* et *Echinococcus oligarthrus*.
5. D'autres échinococcoses avec des cycles presque identiques peuvent se retrouver plus rarement chez l'homme : ***E. multilocularis*** (échinococcose alvéolaire, hémisphère nord (Suisse, France, Allemagne, Autriche), *Taenia* du renard avec comme hôtes intermédiaires les rongeurs [homme] 8 cas humains en Belgique (Wallonie) entre 1998 et 2005, affection gravissime, localisation hépatique et plus rarement pulmonaire, rénale ou méningée). ***E. vogeli*** (échinococcose polykystique, Amérique centrale et du sud, *Taenia* du chien sauvage avec comme hôtes intermédiaires des rongeurs [homme], localisations principales hépatiques ou pulmonaires). ***E. oligarthrus*** (échinococcose extrêmement rare, Amérique centrale et du sud, *Taenia* des félidés avec comme hôtes intermédiaires des rongeurs [homme], localisation variables).

HELMINTHES
(Métazoaires)

- TREMATODES
- CESTODES
- **NEMATODES**

PROTOZOAIRES

- AMIBES
- FLAGELLES
- CILIES
- SPOROZOAIRES

CHAMPIGNONS
ET
BACTERIES

CLASSIFICATION
INCONNUE

Ascaris lumbricoides

Super Famille : Ascaridoidea

Classe : Nématodes

Distribution géographique :

Cosmopolite.

Nom commun :

Ascaris.

Pathologie :

- Ascaridiase (F)
- Giant Roundworm infection, Ascariasis (En)
- Ascaridiasis (Es)

Hôtes définitifs :

- Homme.
- Porc
- Autres espèces animales ?

~~Hôtes intermédiaires :~~

~~Sans hôte intermédiaire~~

~~Et~~

~~sans vecteur~~

Mode de contamination :

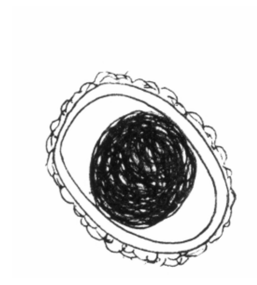
Féco-oral : Ingestion des œufs **embryonnés**.

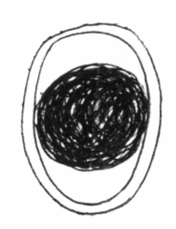
Localisation de l'adulte :

Intestinale (intestin grêle).

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des œufs dans les selles : **Examen direct**, (technique de concentration par sédimentation).
- Identification macroscopique de vers adultes dans les selles ou les vomissements.
- Radiographie (principalement pour des infestations par des vers adultes mâles).
- Sérologie : recherche d'anticorps spécifiques (pour le stade larvaire ou les infestations par des vers adultes mâles).





Morphologie des œufs fécondés:

Dimensions : 45-84 µm x 35-58 µm.
Forme : Ovalaire et symétrique, (sphérique)
Coque : Lisse, incolore, **épaisse,** en général entourée d'une couche albumineuse mamelonnée, brune ou grise.
Contenu : Masse centrale granuleuse unique et ronde (zygote).
Couleur : Brun jaunâtre, moins colorés si semi-décortiqués.

Caractéristiques : 💣 Existence d'œufs semi-décortiqués, sans couche externe (albumine).

Morphologie des œufs non fécondés:

Dimensions : 78-105 µm x 38-55 µm.
Forme : Ellipsoïdale ou irrégulière
Coque : Lisse, incolore, **épaisse** en général entourée d'une couche albumineuse mamelonnée, brune ou grise.
Contenu : Granulations (gouttes) très réfringentes (cellules vitellines).
Couleur : Brun jaunâtre, moins colorés si semi-décortiqués.

Caractéristiques : 💣 Existence d'œufs semi-décortiqués, sans couche externe (albumine).

Autres signes biologiques associés :

- Hyperleucocytose et hyperéosinophilie sévère (stade larvaire) ou modérée (stade adulte) [courbe de Lavier].

Confusions possibles :

- Œufs de *Schistosoma japonicum* ou *S. mekongi*.
- Cellules végétales ou spores (carie du blé, lycopode, ascospore de truffe,…)
- Pollens (Safran, artichaut,…).
- Ancylostomidae (œufs décortiqués).
- Œufs de Fasciolidae.
- Œufs de *Paragonimus* spp.
- Œufs d'*Ascaris suum* (ascaris du porc).
- *Dioctophyma* spp (dans les urines ?).

Remarques :

1. Il doit s'agir de l'œuf le plus difficile à identifier en raison de sa grande variabilité morphologique et de sa ressemblance avec des cellules végétales.
2. Les œufs n'apparaissent dans les selles que 2 à 3 mois après l'infestation (migration somatique et maturation sexuelle).
3. Les œufs nécessitent une maturation avant de devenir infestants : Durée variable en fonction de la température et de l'humidité (minimum 18 jours).
4. Le nombre d'œufs retrouvés dans les selles est souvent très important (un ver femelle pond environ 200.000 œufs par jour). Les techniques de concentration sont donc peu utiles.
5. Des formes larvaires d'*Ascaris lumbricoides* peuvent être retrouvées dans les crachats (technique non indiquée comme diagnostic).
6. Les *Ascaris* adultes, principalement les mâles sont très sensibles au stress (variation de température corporelle, prise de médicaments, …) : Ils quittent le corps par tous les orifices possibles. La durée de vie d'un vers adulte dans l'intestin est estimée à maximum 2 à 3 ans (20 ans ?).
7. L'ascaris du porc (*Ascaris suum*) peut infester l'homme, mais il n'arrive généralement pas à maturité. Cette infestation se manifeste donc habituellement par une *larva migrans* viscérale. Dans ce cas, les œufs ne sont jamais retrouvés dans les selles.

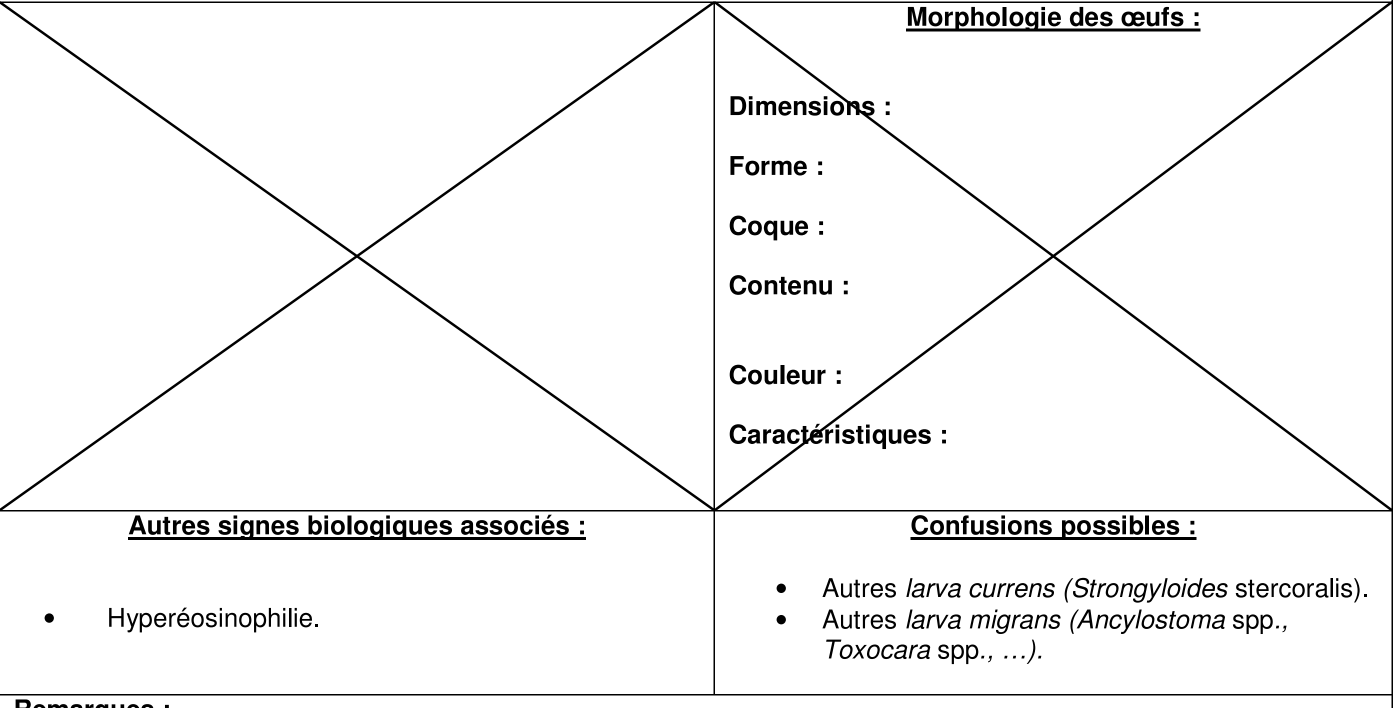
# *Anisakis* spp.	**Super Famille :** Ascaridoidea	**Classe :** Nématodes

Distribution géographique :	**Nom commun :**	**Pathologie :**
Cosmopolite (lié à la consommation de poisson de mer crus)	Ascaris du hareng	• Anisakidose larvaire, Anisakiase (F). • Herring worm disease, Anisakiasis (En). • Anisaquis (Es).

Hôtes définitifs :	**Hôtes intermédiaires :**	**Mode de contamination :**
• Mammifères marins : phoques, marsouins, …	1. Crustacés 2. Poissons de mer (**HOMME)** **(hôte paraténique**)	Ingestion de poisson de mer infesté par des larves L3 vivantes (macroscopiquement bien visible dans le hareng, la sardine, le maquereau,…). **Localisation des larves :** Impasse parasitaire, seules les larves peuvent survivent transitoirement dans le tube digestif de l'homme.

Méthodes diagnostiques :

- Clinique.
- Sérologie : Recherche d'anticorps spécifiques.
- Mise en évidence de larves dans les tissus : Endoscopie, gastroscopie, biopsie sous endoscope).



Morphologie des œufs :

Dimensions :

Forme :

Coque :

Contenu :

Couleur :

Caractéristiques :

Autres signes biologiques associés :	**Confusions possibles :**
• Hyperéosinophilie.	• Autres *larva currens (Strongyloides* stercoralis). • Autres *larva migrans (Ancylostoma* spp.*, Toxocara* spp.*, …).*

Remarques :

1. **Comme le parasite ne se développe pas jusqu'au stade adulte chez l'homme (hôte paraténique), les œufs ne sont jamais retrouvés dans des selles humaines.**
2. Le diagnostic sérologique bien que peu sensible reste d'intérêt diagnostique.
3. Les larves peuvent survivre à basse température (-5°C), au saumurage et à la fumaison jusqu'à 50 °C. Une congélation de 24 heures à – 20 °C tue les larves.
4. *Anisakis simplex* et *Anisakis marina* rencontré très rarement aux Pays-Bas depuis que l'on congèle suffisamment et systématiquement le poisson (maatjes).
5. *Contracoecum, Phocanema* et *Pseudoterranova* provoquant aussi des anisakiases sont fréquents au Japon, mais également retrouvés rarement aux Belgique, au Chili, en Belgique, en Belgique et en Belgique.

Toxocara canis

Super Famille : Ascaridoidea

Classe : Nématodes

Distribution géographique :

Cosmopolite

Nom commun :

Pathologie :

- *Larva migrans* viscérale ou oculaire, Toxocarose (F)
- Visceral or ocular *larva migrans*, Toxocariasis (En).
- *Larva migrans* visceral o ocular, Toxocariasis (Es).

Hôtes définitifs :

- Canidés
- (Homme, en tant qu'hôte paraténique)

Hôtes intermédiaires :

Sans hôte Intermédiaire

Et

Sans vecteur

Mode de contamination :

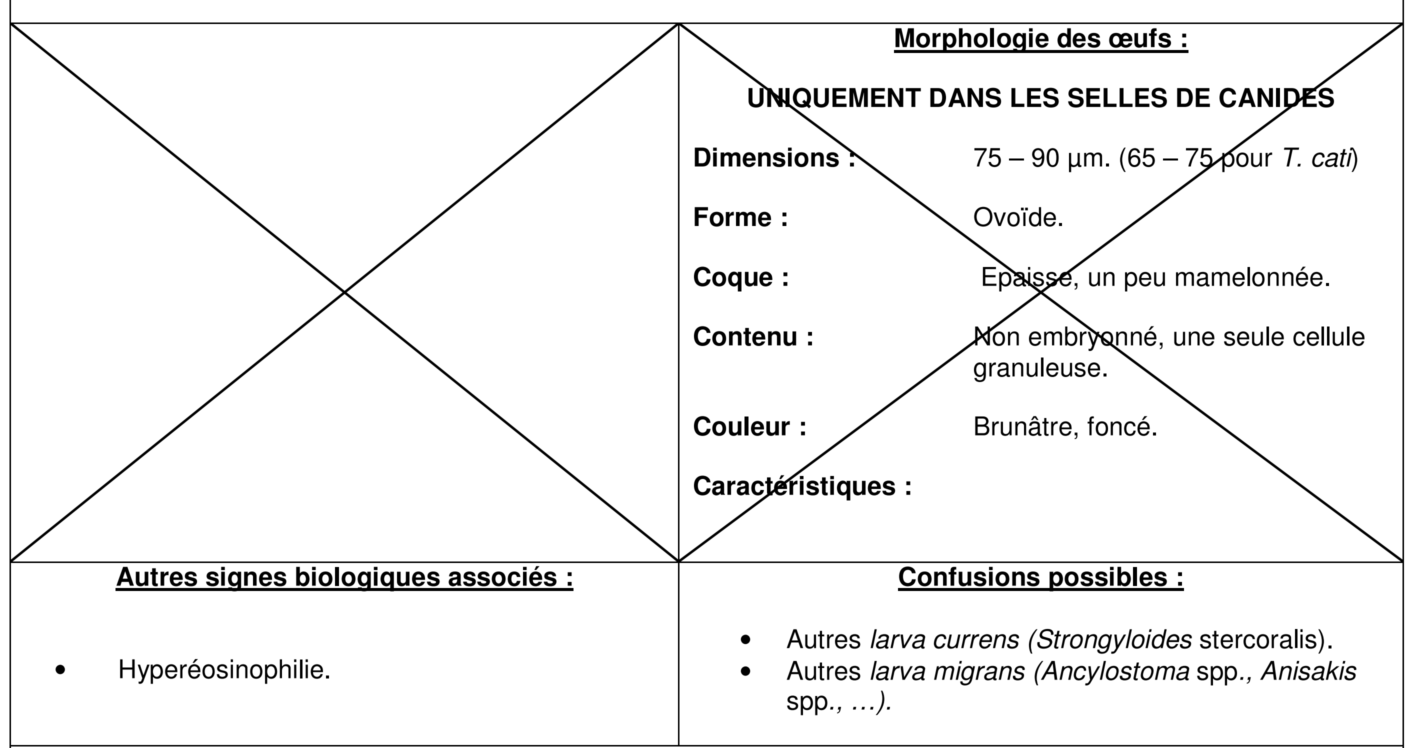
Ingestion d'œufs **embryonnés**.

Localisation des larves :

Larves dans le sang et les tissus. Pas de développement jusqu'au stade adulte.

Méthodes diagnostiques :

- Clinique.
- Sérologie : Recherche d'anticorps spécifiques par différentes techniques.
- (Mise en évidence de larves fixées dans l'œil).



Morphologie des œufs :

UNIQUEMENT DANS LES SELLES DE CANIDES

Dimensions :	75 – 90 µm. (65 – 75 pour *T. cati*)
Forme :	Ovoïde.
Coque :	Epaisse, un peu mamelonnée.
Contenu :	Non embryonné, une seule cellule granuleuse.
Couleur :	Brunâtre, foncé.
Caractéristiques :	

Autres signes biologiques associés :

- Hyperéosinophilie.

Confusions possibles :

- Autres *larva currens (Strongyloides* stercoralis).
- Autres *larva migrans (Ancylostoma* spp.*, Anisakis* spp.*, …).*

Remarques :

1. **Comme le parasite ne se développe pas jusqu'au stade adulte chez l'homme, les œufs ne sont jamais retrouvés dans des selles humaines.** La présence d'autres œufs d'helminthes dans les selles du patient, comme des œufs d'*Ascaris* spp. ou de *Trichuris* spp., indique cependant une exposition fécale, augmentant la probabilité de *Toxocara* spp. dans les tissus en cas de suspicion clinique.
2. *Toxocara cati* (ascaris du chat) et *Baylisascaris procyonis* (ascaris du raton laveur) peuvent aussi produire des *larva migrans* viscérales ou oculaires (moins fréquent).
3. La sérologie n'est utile qu'en confirmation d'un diagnostic clinique. Les tests sérologiques basés sur les TES (Toxocara Excretory-Secretory antigens) seraient préférables (meilleure spécificité). Des réactions croisées avec d'autres nématodes existent cependant. L'évaluation de la sensibilité (de l'ordre de 90 %) et de la spécificité de ces tests n'est pas facile en raison du manque de méthodes parasitologiques pour mettre en évidence *Toxocara*.

Enterobius vermicularis

Super Famille : Oxyuroidea	**Classe :** Nématodes	

Distribution géographique :

Cosmopolite, plus fréquent en zone tempérée.

Nom commun :

Oxyure

Pathologie :

- Oxyurose (F).
- Pinworm infection, threadworm infection, enterobiasis (En).
- Enterobiasis, Oxiuriasis humana (Es).

Hôtes définitifs :

- Homme

Hôtes intermédiaires :

Sans hôte intermédiaire

Et

sans vecteur

Mode de contamination :

Ingestion des œufs (auto infestation aussi possible).

Localisation de l'adulte :

Colon, appendice.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des œufs par scotch test (tape test ou Test de Graham).
- Observation des vers adultes sur la peau péri-anale (principalement la nuit)
- (Découverte des œufs dans selles : Examen direct ou technique de concentration par sédimentation)

Morphologie des œufs (en scotch test) :

Dimensions :	50 – 60 µm x 20 – 32 µm.
Forme :	Asymétrique, ovoïde ou en forme de tranche de pain.
Coque :	Lisse, transparente, à double ligne.
Contenu :	Embryonné (masse granuleuse ou petite larve repliée).
Couleur :	Transparent.
Caractéristiques :	Très transparent et sans couleur ou rarement rose-verdâtre très pâle.

Autres signes biologiques associés :

- Hyperéosinophilie modérée avec de faibles oscillations durant l'infestation.

Confusions possibles :

- Bulles d'air (œufs).
- Fibres végétales non digérées (adultes).

Remarques :

1. Le scotch test doit être réalisé le matin, avant défécation ou toilette matinale. Trois tests réalisés sur une semaine permettent de déceler 95 % des infestations.
2. Des œufs de *Taenia* spp sont aussi parfois retrouvés en tape test.
3. Les œufs d'*Enterobius* spp. sont rarement retrouvés dans les selles.
4. Les vers adultes (8 à 15 mm pour la femelle) doivent être différenciés de fibres végétales (débris alimentaires) ou de petits morceaux de papier hygiénique.
5. Il est assez fréquent de retrouver les œufs d'oxyure dans les urines (principalement chez les fillettes, localisation ectopique vaginale de l'oxyure femelle).
6. Ce parasite se développe entièrement dans la lumière de l'intestin en 3 semaines. Il n'y a donc pas de migration somatique. Si la durée de vie des adultes est inférieure à 55 jours, les auto-infestations expliquent un portage prolongé. Un ver femelle adulte produit environ 10.000 œufs durant sa vie (soit une production journalière de l'ordre de 500 œufs).
7. Une seconde espèce, *Enterobius gregorii* est décrite pour l'Europe, l'Asie et l'Afrique. Sa morphologie, son cycle, sa présentation clinique et son traitement sont identiques.

Trichuris trichiura

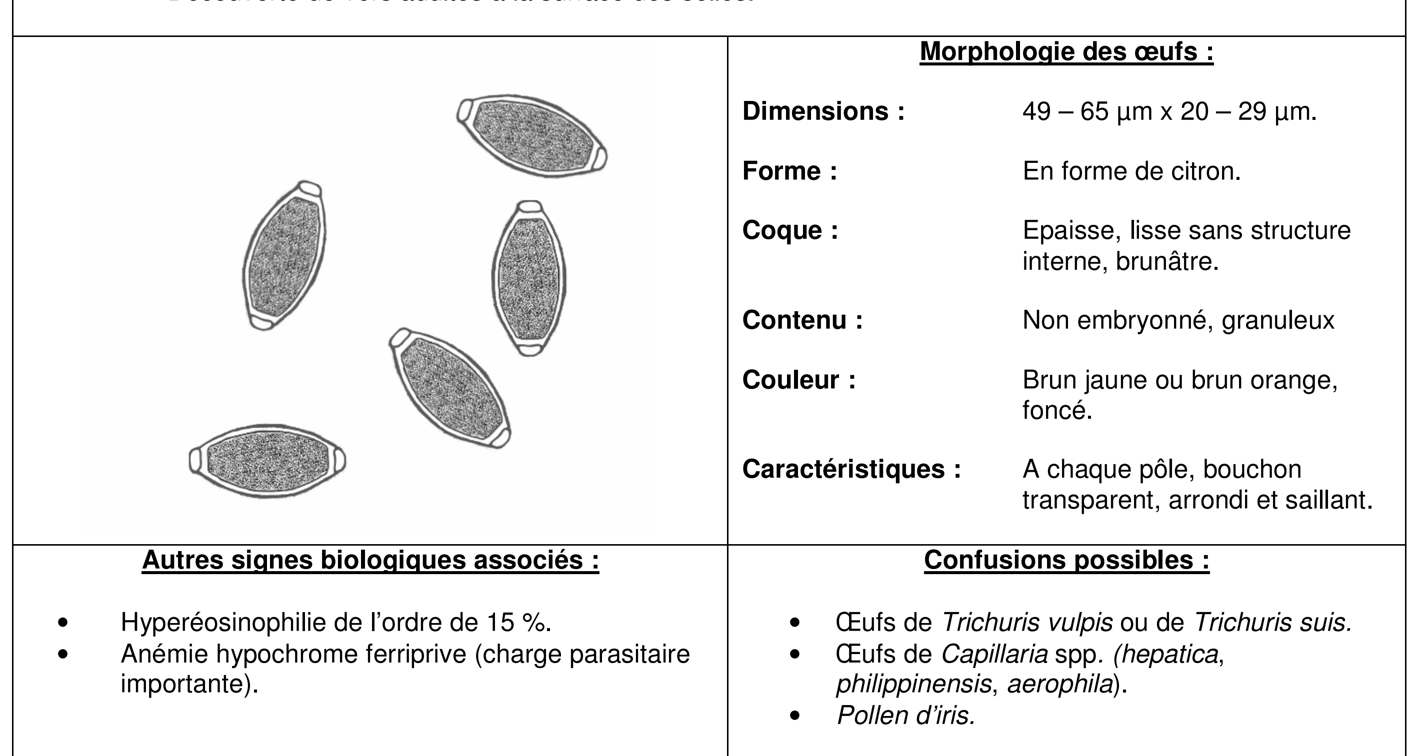
Super Famille :	**Classe :**
Trichuroidea	Nématodes

Distribution géographique :	**Nom commun :**	**Pathologie :**
Cosmopolite, surtout dans les pays Chauds et humides	Trichocéphale	• Trichocéphalose, trichuriase (F) • Whipworm infection, Trichuriasis (En) • Tricocefalosis (Es)

Hôtes définitifs :	**Hôtes intermédiaires :**	**Mode de contamination :**
• Homme	Sans hôte Intermédiaire Et sans vecteur	Féco-oral : Ingestion d'œufs **embryonnés** **Localisation de l'adulte :** Caecum, (colon, appendice).

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des œufs dans les selles : Examen direct, technique de concentration par sédimentation.
- Découverte de vers adultes à la surface des selles.



Morphologie des œufs :

Dimensions :	49 – 65 µm x 20 – 29 µm.
Forme :	En forme de citron.
Coque :	Epaisse, lisse sans structure interne, brunâtre.
Contenu :	Non embryonné, granuleux
Couleur :	Brun jaune ou brun orange, foncé.
Caractéristiques :	A chaque pôle, bouchon transparent, arrondi et saillant.

Autres signes biologiques associés :

- Hyperéosinophilie de l'ordre de 15 %.
- Anémie hypochrome ferriprive (charge parasitaire importante).

Confusions possibles :

- Œufs de *Trichuris vulpis* ou de *Trichuris suis.*
- Œufs de *Capillaria* spp. *(hepatica*, *philippinensis*, *aerophila*).
- *Pollen d'iris.*

Remarques :

1. Des œufs de plus grande taille, ayant une forme ou une épaisseur de coque anormale se retrouvent parfois dans les selles. Cette déformation se présente sous antihelminthiques ou lors de l'ingestion de *Trichuris vulpis* (parasite du chien, œufs de passage [70 – 90 x 32 – 41]).
2. *Trichuris suis*, parasite du porc est étudié comme traitement non conventionnel pour les colites ulcératives ou la maladie de Crohn. Dans le cadre de ces traitements, un développement en adultes matures avec production d'œufs chez l'homme a été décrit.
3. La maturation des œufs nécessite de 10 jours à plusieurs mois en fonction de la température et de l'humidité du milieu extérieur.
4. Les œufs n'apparaissent dans les selles que 30 à 90 jours après l'infestation (maturation du ver adulte). Certaines études donnent une période prépatente pouvant aller jusqu'à 130 jours.
5. Ponte quotidienne entre 3.000 et 20.000 œufs par femelle adulte. Comme la sévérité des symptômes est liée à la charge parasitaire, un comptage des œufs peut-être utile (certaines personnes seraient cependant hypersensibles).
6. Ce parasite ce développerait complètement dans la lumière intestinale. Il n'y a donc pas de migration somatique.
7. Le ver adulte de 3 à 5 cm de long à une forme très typique : La partie antérieure du corps est très effilée et ressemble à un fouet. La durée de vie de l'adulte est estimée entre 1 à 4 ans en moyenne (avec des extrêmes publiés allant jusqu'à 20 ans).

Capillaria philippinensis

Super Famille : Trichuroidea

Classe : Nématodes

Distribution géographique :

Philippine et Thaïlande (endémique), rarement Asie, Colombie et Moyen orient.

Nom commun :

Pathologie :

- Capillariose intestinale (F).
- Intestinal capillariasis (En).
- Capillariasis intestinal (Es)

Hôtes définitifs :

- Oiseaux piscivores
- Homme (rare)

Hôtes intermédiaires :

Poissons d'eau douce

Mode de contamination :

Ingestion de poisson infesté par des larves.

Localisation de l'adulte :

Intestin grêle.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche œufs ou des larves dans les selles : Examen direct, technique de concentration par sédimentation.
- Découverte des vers adultes dans les selles.

Morphologie des œufs :

Dimensions :	50 – 60 µm x 20 – 30 µm
Forme :	Ovoïde, en forme de tonneau.
Coque :	Epaisse, structure dense, souvent radiale.
Contenu :	Non embryonné, granuleux.
Couleur :	Brun jaune, brun gris.
Caractéristiques :	Deux bouchons polaires ne dépassant pas le bord externe de la coque.

Autres signes biologiques associés :

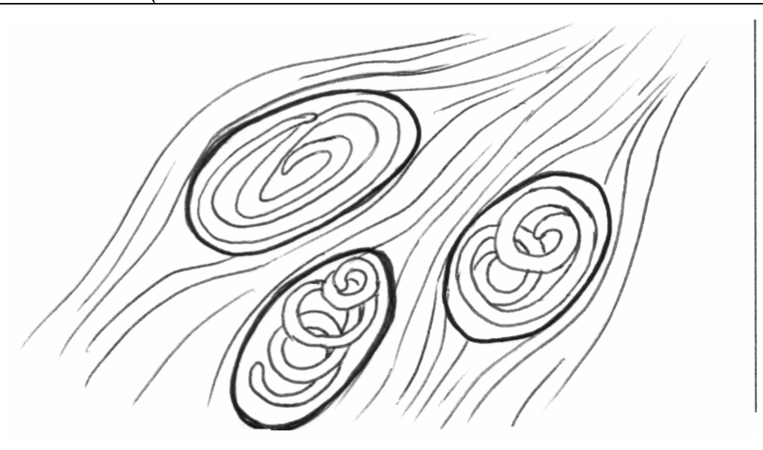
- Hyperéosinophilie.

Confusions possibles :

- Œufs de *Trichuris trichiura*.
- Œufs de*s autres Capillaria* *(C. hepatica ou aerophila)*

Remarques :

1. **Il est impossible de distinguer microscopiquement les différentes espèces de *Capillaria* :** *Capillaria philippininensis*, *Capillaria aerophila* (cosmopolite, sans hôte intermédiaire, ingestion des œufs embryonnés, infestant les chiens, chats, renards et mustélidés et exceptionnellement l'homme), *Capillaria hepatica* (cosmopolite, sans hôte intermédiaire, ingestion des œufs embryonnés, infestant différents animaux dont les rongeurs et exceptionnellement l'homme). Pour ces deux dernières espèces, moins de 100 infestations humaines ont été décrites dans la littérature. La réponse parasitologique correcte pour des œufs retrouvés dans les selles est donc C*apillaria* spp.
2. Les femelles pondent des œufs non embryonnés dans l'intestin. Certains d'entres eux peuvent s'embryonnés et libérés des larves qui peuvent ainsi causés une auto-infestation, entraînant une infestation massive.
3. Les vers adultes sont des petits nématodes de 2,5 à 4,3 mm.
4. L'espérance de vie du ver adulte est estimée entre 1 et 4 mois pour *Capillaria hepatica* et environ 1 an pour *Capillaria aerophila.* Les œufs apparaissent dans les selles 2 à 3 semaines après l'infestation (*Capillaria hepatica)*

<table>
<tr><td colspan="2">Trichinella spp.</td><td><u>Super Famille :</u>
Trichuroidea</td><td><u>Classe :</u>
Nématodes</td></tr>
<tr><td><u>Distribution géographique :</u>
Cosmopolite
sauf Australie</td><td><u>Nom commun :</u>
Trichines</td><td colspan="2"><u>Pathologie :</u>
• Trichinose, Trichinellose (F).
• Trichinosis, Trichinellosis (En).
• Triquonosis, Triquinosis (Es).</td></tr>
<tr><td><u>Hôtes définitifs :</u>
• Mammifères (Homme).</td><td><u>Hôtes intermédiaires :</u>
Sans hôte Intermédiaire
Et
Sans vecteur</td><td colspan="2"><u>Mode de contamination :</u>
Ingestion de viande contenant des larves (trichines) vivantes.
<u>(Localisation des adultes :)</u>
(Intestin grêle).
<u>Localisation des larves :</u>
Larves enkystées dans les muscles striés.</td></tr>
<tr><td colspan="4"><u>Méthodes diagnostiques :</u>
• Clinique suggestive.
• Recherche des larves dans des biopsies musculaires.
• Sérologie : Recherche d'anticorps spécifiques contre les antigènes ES, …
• (Identification des adultes ou des larves dans les selles).</td></tr>
<tr><td colspan="2"></td><td colspan="2"><u>Morphologie des trichines :</u>
BIOPSIE MUSCULAIRE
Dimensions : 400 – 500 µm x 250 µm.
Forme : Ovoïdes, parallèle aux fibres musculaires.
Contenu : Larves enroulée
Caractéristiques : Larves typiques enkystées dans les muscles striés. Calcification possible.</td></tr>
<tr><td colspan="2"><u>Autres signes biologiques associés :</u>
• Hyperéosinophilie de l'ordre de 50 % (principalement durant la phase de migration).
• Elévation des enzymes musculaires (PK, LDH, Aldolase)</td><td colspan="2"><u>Confusions possibles :</u>
• Autres Trichinella spp.</td></tr>
<tr><td colspan="4"><u>Remarques :</u>
1. Les vers adultes (1 - 4 mm x 60 – 75 µm) ou les larves (80 – 120 µm) peuvent exceptionnellement se retrouver dans les selles. Les vers adultes survivent peu de temps dans l'intestin (maximum 4 mois). Durant leur vie, les vers adultes femelles produisent entre 1.000 et 2.000 larves qui vont s'enkyster dans les muscles striés. Les larves intracellulaires détournent le fonctionnement cellulaire à leur profit (Nurse cell).
2. Les trichines sont tuées par une congélation de la viande de plus de 10 jours à -18°C, par une cuisson prolongée (10 minutes à 80 °C) ou par une saumure importante (6 semaines dans 19 % de NaCl).
3. Trichinella spiralis (Cosmopolite, mammifères et omnivores) est le plus souvent incriminée dans les infestations humaines. [En 2004, un sanglier tué à Mettet (Belgique) était infesté].   D'autres espèces de Trichinella sont parfois retrouvées chez l'homme : Trichinella pseudospiralis (Cosmopolite, infectant les mammifères et les oiseaux), Trichinella nativa (Ours arctiques), Trichinella nelsoni (Prédateurs africains), Trichinella britovi (Carnivores d'Europe et de l'ouest asiatique), ...
4. Pour les tests sérologiques, l'antigène ES TSL-1 serait préféré. Il est en effet conservé au sein des différentes espèces de Trichinella. La sérologie ne se positive habituellement que 3 à 5 semaines après l'infestation.
5. La biopsie musculaire est examinée entre deux lames à faible grossissement. Il est possible de faire un enrichissement par digestion de la biopsie (digestion par pepsine à 2 % en HCl 0,5 %, pendant 2 heures à 37 °C, puis sédimentation sur gaze pour éliminer les gros débris).</td></tr>
</table>

Ancylostoma duodenale
Necator americanus

Super Famille :	**Classe :**
Ancylostomatoidea	Nématodes

Distribution géographique :

Ancylostoma duodenale **:**
Europe, Afrique du nord, Asie.

Necator americanus :
Amériques, Afrique, Chine, Indonésie, Australie.

Nom commun :

Ver du mineur

Pathologie :

- Ankylostomiase (F).
- Ancylostomiasis, Hookworm infection (En).
- Uncinariasis, anemia de los mineros (Es).

Hôtes définitifs :

- Homme
- Pour *A. duodenale* : Singes, porcs, félidés et canidés.

~~Hôtes intermédiaires :~~

~~Sans hôte Intermédiaire~~
~~Et~~
~~Sans vecteur~~

Mode de contamination :

Transcutanée par contact avec de la boue contaminée par des larves infestantes. (+ voie orale pour *A. duodenale*).

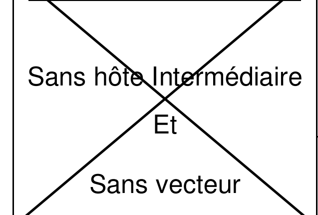
[transmission verticale possible de la mère à son enfant pour *A. duodenale*].

Localisation de l'adulte :

Jéjunum, duodénum (caecum).

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des œufs dans les selles : Examen direct, technique de concentration par sédimentation.
- (Identification de larves strongyloides ou rhabditoïdes dans les selles.)



Morphologie des œufs :
FORME FREQUENTE dans les selles
(cf. tableau comparatif avec *S. stercoralis*)

Dimensions :	60 – 80 µm x 35 – 40 µm.
Forme :	Ovoïde, symétrique
Coque :	Mince, simple
Contenu :	de 4 (*Ancylostoma* sp.) à 8 (*Necator* sp.*)* blastomères.
Couleur :	Incolore.
Caractéristiques :	En général contient des blastomères, parfois une morula ou un embryon

Morphologie des larves rhabditoïdes :
FORME RARE dans les selles
(cf. tableau comparatif avec *S. stercoralis*)

Dimensions :	200 – 300 µm. x 14 – 17 µm.
Caractéristiques :	Cavité buccale longue (aussi longue que la largeur du corps de la larve. Œsophage **avec** un bulbe. Queue pointue.

Morphologie des larves Strongyloides (filariformes) :
FORME TRES RARE dans les selles
(cf. tableau comparatif avec *S. stercoralis*)

Dimensions :	500 – 700 µm. x 20 – 24 µm.
Caractéristiques :	Cavité buccale longue (aussi longue que la largeur du corps de la larve. Œsophage **sans** bulbe. Queue pointue.

Autres signes biologiques associés :

- Hyperéosinophilie de l'ordre de 30 %.
- Anémie hypochrome microcytaire, diminution du fer sérique (atteinte chronique).

Confusions possibles :

- *Strongyloides stercoralis* (œufs et larves).
- *Trichostrongylus* spp. (œufs).
- Acariens (œufs).
- *Enterobius vermicularis.* (œufs).
- *Ascaris lumbricoides* semi décortiqué (œufs).
- *Heterodera marioni* (œufs) [nématodes des plantes]
- Poils végétaux (larves).

Remarques :

1. **Il est impossible de distinguer microscopiquement *A. duodenale*, *A. ceylanicum N. americanus*. Les œufs seront rapportés comme œufs d'Ancylostomidés.**
2. La distribution géographique n'est pas un critère de distinction des espèces : En effet, la répartition des deux espèces se chevauche suite à des importations. Les températures optimales de développement sont cependant un peu différentes (21 à 27 °C pour *Ancylostoma* spp., 25 à 35 °C pour *Necator* sp.).
3. *Oesophagostomum bifurcum*, parasite zoonotique retrouvé au nord du Togo et au Ghana, responsable de la « multinodular disease », produit aussi des œufs indistinguables microscopiquement des ancylostomidés.
4. **Les stades larvaires ne sont retrouvés que dans des échantillons de selles qui sont examinés longtemps après émission (plus de 12 heures).**
5. La quantité de sang absorbée ou gaspillée quotidiennement par *A. duodenale* est estimée à 0.2 ml par ver adulte (0.02 ml pour *N. americanus*).
6. Ponte journalière de 5.000 à 22.000 œufs par jours et par femelle adulte (3.000 à 6.000 pour *N. americanus*.).
7. Les œufs n'apparaissent dans les selles que 15 à 40 jours après l'infestation (migration somatique du parasite et maturation sexuelle). Des formes larvaires peuvent être retrouvées dans les crachats durant la phase pulmonaire (technique non indiquée pour le diagnostic).
8. La durée de vie de l'adulte est estimée entre 4 à 20 ans pour *N. americanus* et entre 1 et 9 ans pour *A. duodenale*.
9. D'autres espèces d'Ancylostomes infectant normalement les animaux peuvent aussi parasiter l'homme : *A. ceylanicum* [hamster] qui est morphologiquement et pathologiquement identique à *A. duodenale*, et d'autres espèces du type *A. braziliense* qui ne peuvent se développer complètement et provoquent des *larva migrans* cutanée.

Strongyloides stercoralis

Super Famille : Rhabdiasoidea

Classe : Nématodes

Distribution géographique :

Pays tropicaux ou sub-tropicaux

Sporadique en zone froide ou tempérée (mines, tunnels, …)

Nom commun :

Anguillule

Pathologie :

- Anguillulose (F)
- Threadworm infection, strongyloidiasis (En)
- Estrongiloidiasis (Es)

Hôtes définitifs :

- Homme
- Chimpanzé, chien, chats.

Hôtes intermédiaires :

Sans hôtes intermédiaire

Et

sans vecteur

Mode de contamination :

Transcutanée par contact avec de la boue contaminée par des larves strongyloides infestantes.

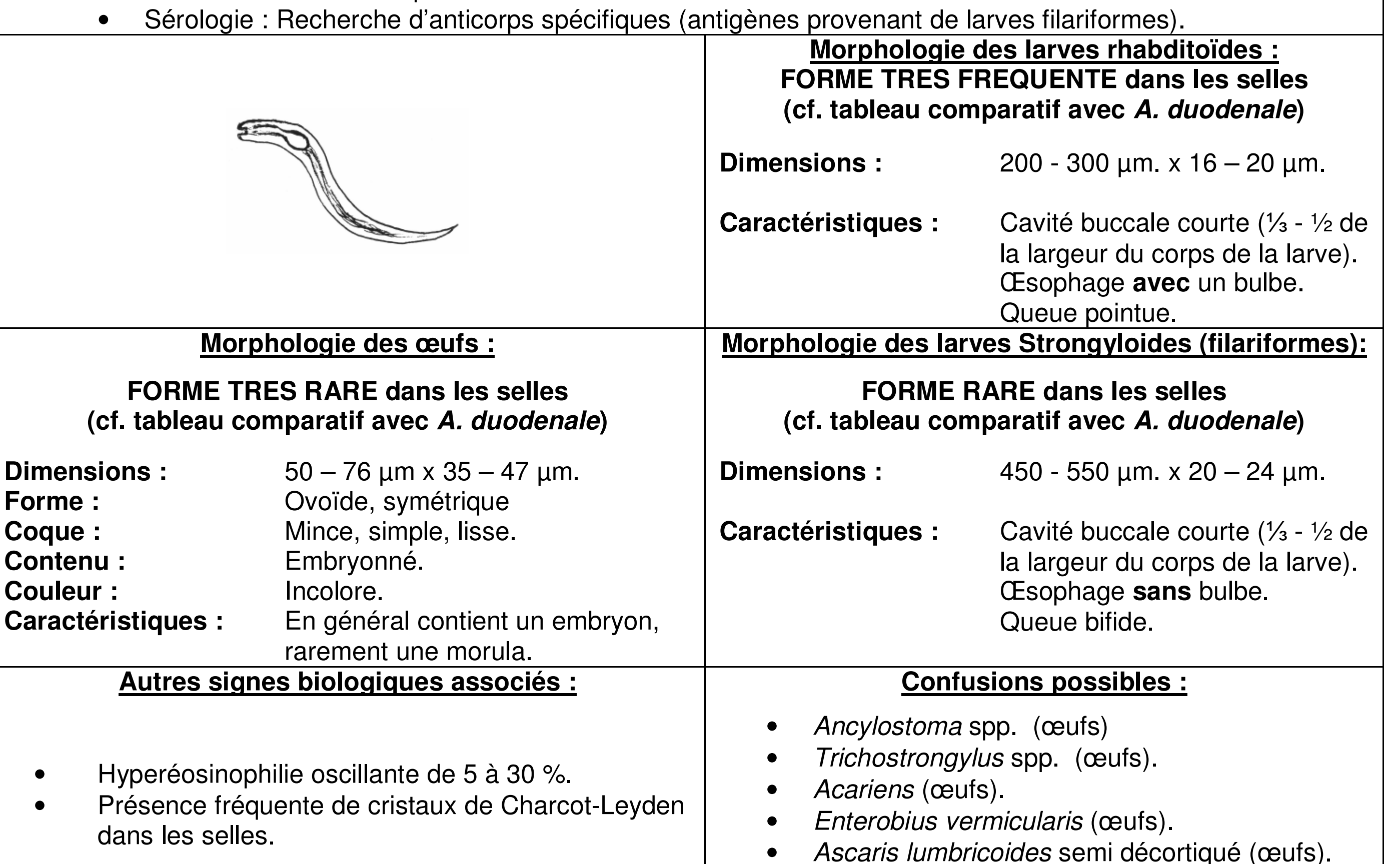
Auto-infestation trans-intestinale ou trans-péri-anale.

Localisation de l'adulte :

Duodénum.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des larves dans les selles : Examen à frais, technique de concentration par sédimentation, **technique de concentration spécifique de Baermann,** culture en agar.
- (Recherche des larves dans un liquide d'intubation duodénale ou dans un Enterotest ®).
- Identification des œufs présents dans les selles.
- Sérologie : Recherche d'anticorps spécifiques (antigènes provenant de larves filariformes).



Morphologie des larves rhabditoïdes :

FORME TRES FREQUENTE dans les selles
(cf. tableau comparatif avec *A. duodenale*)

Dimensions :	200 - 300 µm. x 16 – 20 µm.
Caractéristiques :	Cavité buccale courte (⅓ - ½ de la largeur du corps de la larve). Œsophage **avec** un bulbe. Queue pointue.

Morphologie des œufs :

FORME TRES RARE dans les selles
(cf. tableau comparatif avec *A. duodenale*)

Dimensions :	50 – 76 µm x 35 – 47 µm.
Forme :	Ovoïde, symétrique
Coque :	Mince, simple, lisse.
Contenu :	Embryonné.
Couleur :	Incolore.
Caractéristiques :	En général contient un embryon, rarement une morula.

Morphologie des larves Strongyloides (filariformes):

FORME RARE dans les selles
(cf. tableau comparatif avec *A. duodenale*)

Dimensions :	450 - 550 µm. x 20 – 24 µm.
Caractéristiques :	Cavité buccale courte (⅓ - ½ de la largeur du corps de la larve). Œsophage **sans** bulbe. Queue bifide.

Autres signes biologiques associés :

- Hyperéosinophilie oscillante de 5 à 30 %.
- Présence fréquente de cristaux de Charcot-Leyden dans les selles.

Confusions possibles :

- *Ancylostoma* spp. (œufs)
- *Trichostrongylus* spp. (œufs).
- *Acariens* (œufs).
- *Enterobius vermicularis* (œufs).
- *Ascaris lumbricoides* semi décortiqué (œufs).
- Fibres et poils végétaux (larves).

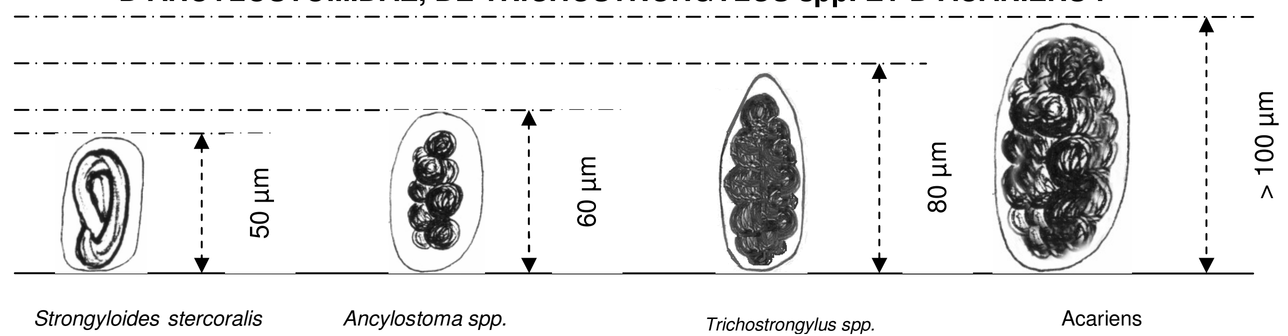
Remarques :

1. Les œufs ne se retrouvent habituellement qu'en cas de diarrhée profuse.
2. Dans des selles fraîches, les larves observées sont généralement **rhabditoïdes**, après plus de 12 heures, ces larves peuvent muées en strongyloïdes. La présence de larves strongyloïdes (aussi appelées larves filariformes) dans des selles fraîches peut être l'indication d'une hyper infestation généralisée (auto-infestation chez des personnes immuno déprimées).
3. Les larves apparaissent dans les selles 2 à 3 semaines après l'infestation. Si la durée de vie des adultes assez est courte, les auto-infestations expliquent un portage prolongé (> 25 ans).
4. Des formes larvaires peuvent être retrouvées dans les crachats (technique non indiquée pour le diagnostic).
5. En cas d'auto-infestation trans-péri-anale, le passage sous la peau des larves d'anguillule provoque une forme particulière de *larva migrans* cutanée : la *larva currens* qui se caractérise par une reptation de quelques centimètres par heures (région péri-anale puis lombes et abdomen).
6. D'autres espèces de *Strongyloides* infestant les Chimpanzés et les babouins [*S. fuelleborni*] peuvent aussi infester l'homme, mais avec une pathologie plus limitée. On retrouve alors plutôt les œufs au stade de blastomères. Le mode de contamination chez l'animal est aussi trans-mammaire (aussi pour l'homme ?).
7. D'autres espèces de *Strongyloides* infestant les animaux peuvent seulement évoluer en *larva migrans* cutanée chez l'homme.
8. La sérologie offre une sensibilité de l'ordre de 90%. En cas de traitement efficace, on observe une diminution importante du titre en 9 à 12 mois.

TABLEAU COMPARATIF DES STADES DE DÉVELOPPEMENT DES ANCYLOSTOMIDAE ET DE *STRONGYLOIDES STERCORALIS* RETROUVÉS DANS LES SELLES

Stades	*Strongyloides stercoralis*	*Ancylostoma duodenale* *Necator americanus*
Œufs	Forme TRES RARE dans les selles < 1 heure Généralement entre 50 - 55 µm (minimum 50 µm, maximum 76 µm) Généralement embryonné	Forme FREQUENTE dans les selles 12 heures Généralement entre 60 - 65 µm (minimum 60 µm, maximum 80 µm) Généralement blastomères ou morula
Larves rhabditoïdes	Forme FREQUENTE dans les selles qq heures Généralement 225 µm de long sur 18 µm (minimum 200 µm, maximum 300 µm) CAVITE BUCCALE COURTE Bulbe Queue peu pointue	Forme RARE dans les selles 10 jours Généralement 250 µm de long sur 16 µm (minimum 200 µm, maximum 300 µm) CAVITE BUCCALE PROFONDE Bulbe Queue très pointue
Larves strongyloïdes Ou Larves filariformes	Forme RARE dans les selles Généralement entre 500 µm sur 22 µm (minimum 500 µm, maximum 550 µm) CAVITE BUCCALE COURTE Sans bulbe Queue bifide	Forme TRES RARE dans les selles Généralement 700 µm de long sur 22 µm (minimum 500 µm, maximum 700 µm) CAVITE BUCCALE PROFONDE Sans bulbe Queue pointue

TABLEAU COMPARATIF DE LA TAILLE DES ŒUFS DE *STRONGYLOIDES STERCORALIS*, D'ANCYLOSTOMIDAE, DE *TRICHOSTRONGYLUS* spp. ET D'ACARIENS :



Trichostrongylus spp.

Super Famille : Trichostrongyloidea

Classe : Nématodes

Distribution géographique :

Cosmopolite

Nom commun :

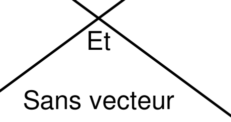
Pathologie :

- Trichostrongylose (F)
- Trichostrongyliasis (En)
- Trichostrongiliasis (Es)

Hôtes définitifs :

- Ovins, caprins, bovins
- Camélidés, Cheval, porc
- Homme (Zoonose)

Hôtes intermédiaires :



Sans hôte intermédiaire

Et

Sans vecteur

Mode de contamination :

Ingestion de larves Strongyloides infestantes.

Localisation de l'adulte :

Lumière Intestinale.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des larves dans les selles : Examen à frais, technique de concentration par sédimentation.

Morphologie des œufs :

(cf. tableau comparatif avec *A. duodenale* et *S. stercoralis*)



Dimensions :	79 – 100 µm x 40 – 50 µm.
Forme :	Ovoïde, pôles inégaux, un pôle plus arrondi que l'autre.
Coque :	Mince, lisse.
Contenu :	Nombreux blastomères ou une morula, grisâtre.
Couleur :	Incolore.
Caractéristiques :	Une des parois latérales est souvent aplatie.





Autres signes biologiques associés :

- Hyperéosinophilie.
- Anémie hypochrome microcytaire, diminution du fer sérique (atteinte chronique).

Confusions possibles :

- *Ancylostoma* spp. (œufs).
- *Strongyloides stercoralis* (œufs).
- *Enterobius vermicularis* (œufs).
- *Ascaris lumbricoides* semi décortiqué (œufs).
- Acariens (œufs).

Remarques :

1. Après l'infestation orale, il n'y a pas de migration somatique. Les vers adultes s'établissent et se développent dans l'intestin.
2. Les espèces de cette super famille infestant l'homme sont toutes zoonotiques. Certaines d'entre-elles n'infestent qu'occasionnellement l'homme, d'autres peuvent être responsables d'infestations de masse. Il s'agit d'un parasite peut pathogène pour l'homme.

Wuchereria bancrofti

Super Famille :	**Classe :**
Filarioidea	Nématodes

Distribution géographique :	**Nom commun :**	**Pathologie :**
Régions tropicales et subtropicales (sauf désert). Turquie (petit foyer résiduel ?).	Filariose de Bancroft.	• Wuchereriase (F) • Bancroftian filariasis, lymphatic filariasis (En) • Wuchereriasis, filariasis linfática (Es)

Hôtes définitifs :	**Hôtes intermédiaires :**	**Mode de contamination :**
• Homme.	**Vecteurs** : Culicidés : C*ulex* spp., *Aedes* spp., *Mansonia* spp., *Anopheles* spp..	Pénétration transcutanée active (généralement via la piqûre) des larves métacycliques infestantes déposées lors de la piqûre par un vecteur infecté.

Localisation de l'adulte :

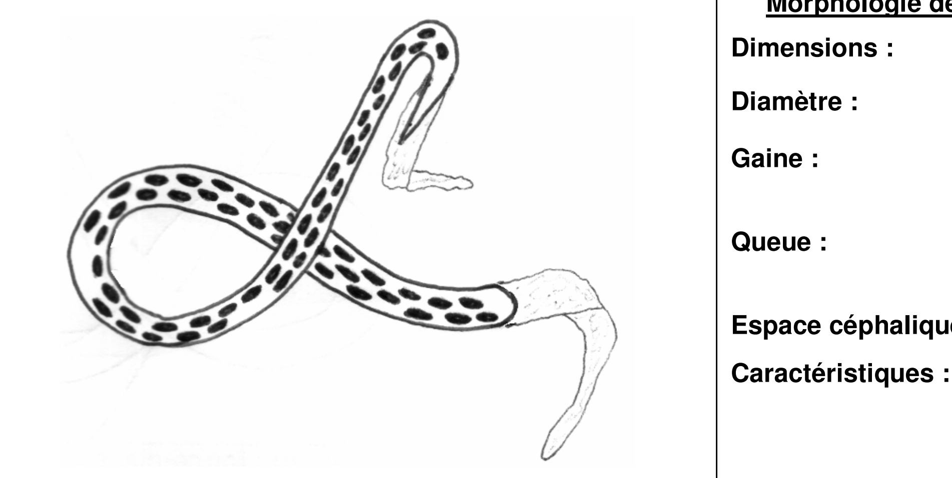
Organes lymphatiques.

Localisation des microfilaires :

Sang.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des microfilaires dans le sang
  - à frais dans une goutte de sang (peu sensible, pas d'identification de l'espèce).
  - en goutte épaisse colorée au Giemsa [hématoxyline ou Carazzi] (identification de l'espèce).
  - en Woo à frais (pas d'identification de l'espèce).
  - en Knott coloré (technique de concentration, étirement des microfilaires).
  - après filtration sur membrane et coloration (très sensible. Usage plus épidémiologique).
- Recherche d'antigènes filariens dans le sang (dipstick, sensibilité proche de celle du Knott).
- Recherche des anticorps sériques [principalement IgG4].
- Recherche d'ADN spécifique par PCR.
- Détection des vers adultes et des dilatations lymphatiques anormales par imagerie médicale.



Morphologie de la microfilaire (GE, Giemsa) :

Dimensions :	240 à 300 µm.
Diamètre :	7.5 – 10 µm.
Gaine :	Oui, mais très rarement colorée en rose au Giemsa.
Queue :	Effilée, pointue, sans noyaux, souvent repliée.
Espace céphalique :	Court (Aussi long que large).
Caractéristiques :	Noyaux bien individualisés, petits, sauf premiers et derniers noyaux très ovoïdes, queue pointue et vide.

Autres signes biologiques associés :

- Hyperéosinophilie persistante durant l'infestation.

Confusions possibles :

- Autres microfilaires sanguines ou dermiques.
- Fibres végétales (coton, …).
- Larves d'helminthes durant leur migration somatique.
- Champignons (*Helicosporium*).
- Zoonose (*Dirofilaria* spp, *Microfilaria* spp.).

Remarques :

1. Ces microfilaires sont à périodicité nocturne ou parfois sub-périodiques. Les prélèvements sanguins doivent être effectués entre 23 heures et 4 heures du matin (pour les personnes ayant une activité diurne).
2. Les microfilaires n'apparaissent dans le sang que 8 à 12 mois après l'infestation maturation (jusqu'au stade adulte). Les vers adultes peuvent survivre plus de 25 ans chez l'homme et les microfilaires plus de 70 jours.
3. En cas d'éléphantiasis (symptôme tardif), il est presque impossible de retrouver des microfilaires dans le sang. Si cette éléphantiasis touche les jambes, elle affectera le dessus et le dessous des genoux.
4. Il est aussi possible de retrouver des microfilaires dans les urines (chylurie).
5. Les tests sérologiques ne permettent pas de faire une distinction d'espèce. Il existe des réactions croisées avec d'autres nématodes et *E. granulosus*.

Brugia malayi

Brugia malayi		**Super Famille :** Filarioidea	**Classe :** Nématodes

Distribution géographique :

Asie (sud et est)
Inde

Nom commun :

Filariose malaise.

Pathologie :

- Filariose Brugia (F)
- Malayan filariasis (En)
- Filariasis de Malaia (Es)

Hôtes définitifs :

- Homme.
- Certains singes.
- Chats ?

Hôtes intermédiaires :

Vecteurs : Culicidés

Mansonia spp.
Anopheles, spp.

Mode de contamination :

Pénétration transcutanée active (généralement via la piqûre) des larves infestantes déposées lors de la piqûre par un vecteur infecté.

Localisation de l'adulte :

Organes lymphatiques.

Localisation des microfilaires :

Sang.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des microfilaires dans le sang
  - à frais dans une goutte de sang (peu sensible, pas d'identification de l'espèce).
  - en goutte épaisse colorée au Giemsa [hématoxyline ou Carazzi] (identification de l'espèce).
  - en Woo à frais (pas d'identification de l'espèce).
  - en Knott coloré (technique de concentration, étirement des microfilaires).
  - après filtration sur membrane et coloration (très sensible. Usage plus épidémiologique).
- Recherche d'antigènes filariens dans le sang.
- Recherche des anticorps sériques [principalement IgG4].
- Recherche d'ADN spécifique par PCR.
- Détection des vers adultes et des dilatations lymphatiques anormales par imagerie médicale.



Morphologie de la microfilaire (GE, Giemsa) :

Dimensions :	175 à 230 µm.
Diamètre :	5 – 6 µm.
Gaine :	Oui, souvent (sauf sub-périodiques) colorée en rose au Giemsa (fines ponctuations).
Queue :	Effilée, souvent repliée, avant dernier et dernier noyaux très espacés.
Espace céphalique :	Long : 2 x plus long que large.
Caractéristiques :	Souvent fort repliée dans la préparation (sauf Knott).

Autres signes biologiques associés :

- Hyperéosinophilie persistante durant l'infestation.

Confusions possibles :

- Autres microfilaires sanguines ou dermiques.
- Fibres végétales (coton, …).
- Larves d'helminthes durant leur migration somatique.
- Champignons (*Helicosporium*).
- Zoonose (*Dirofilaria* spp, *Microfilaria* spp.)

Remarques :

1. Ces microfilaires sont à périodicité nocturne. Les prélèvements sanguins doivent être effectués entre 23 heures et 4 heures du matin (pour les personnes ayant une activité diurne). Sauf dans certaines parties de l'Indonésie, de la Malaisie, des Philippines et de la Thaïlande (subpériodicité nocturne).
2. La gaine se perd dans 50 % des microfilaires du type sub-périodique. Elle est généralement visible pour les microfilaires du type périodique. La gaine empêche parfois la coloration correcte des noyaux.
3. En cas d'éléphantiasis (symptôme tardif), il est presque impossible de retrouver des microfilaires dans le sang. Si cette éléphantiasis touche les jambes cela affectera le dessous des genoux.
4. Le développement jusqu'au stade adulte nécessite entre 67 et 98 jours. Les vers adultes ont une durée de vie estimée à plus de 15 ans.
5. Il est aussi possible de retrouver des microfilaires dans les urines.
6. Les tests sérologiques ne permettent pas de faire une distinction d'espèce. Il existe des réactions croisées avec d'autres nématodes et *E. granulosus*.

Brugia timori

Super Famille : Filarioidea

Classe : Nématodes

Distribution géographique :

Archipel indonésien : De Timor à Bali et aux petites îles de la Sonde.

Nom commun :

Filariose

Pathologie :

- Filariose du Timor (F)
- Timorean filariasis (En)
- Filariasis de Timor (Es)

Hôtes définitifs :

- Homme.
- ?

Hôtes intermédiaires :

Vecteurs : Culicidés

Anopheles, spp.

Mode de contamination :

Pénétration transcutanée active (généralement via la piqûre) des larves infestantes déposées lors de la piqûre par un vecteur infecté.

Localisation de l'adulte :

Organes lymphatiques.

Localisation des microfilaires :

Sang.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des microfilaires dans le sang
  - à frais dans une goutte de sang (peu sensible, pas d'identification de l'espèce).
  - en goutte épaisse colorée au Giemsa [hématoxyline ou Carazzi] (identification de l'espèce).
  - en Woo à frais (pas d'identification de l'espèce).
  - en Knott coloré (technique de concentration, étirement des microfilaires).
  - après filtration sur membrane et coloration (très sensible. Usage plus épidémiologique).
- Recherche d'antigènes filariens dans le sang (dipstick disponibles).
- Recherche des anticorps sériques [principalement IgG4].
- Recherche d'ADN spécifique par PCR.
- Détection des vers adultes et des dilatations lymphatiques anormales par imagerie médicale.



Morphologie de la microfilaire (GE, Giemsa) :

Dimensions :	265 à 325 µm.
Diamètre :	4.4 – 6.8 µm.
Gaine :	Oui, (non colorée au Giemsa).
Queue :	Effilée, souvent repliée, avant dernier et dernier noyaux très espacés.
Espace céphalique :	Très long : (2) 3 x plus long que large.
Caractéristiques :	Souvent fort repliée dans la préparation (sauf Knott). Sur 1/3 du corps, noyaux peu colorés donnant une impression de « vide ».

Autres signes biologiques associés :

- Hyperéosinophilie persistante durant l'infestation.

Confusions possibles :

- Autres microfilaires sanguines ou dermiques.
- Fibres végétales (coton, …).
- Larves d'helminthes durant leur migration somatique.
- Champignons (*Helicosporium*).
- Zoonose (*Dirofilaria* spp, *Microfilaria* spp.)

Remarques :

1. Ces microfilaires sont à périodicité nocturne stricte. Les prélèvements sanguins doivent être effectués entre 23 heures et 4 heures du matin (pour les personnes ayant une activité diurne).
2. En cas d'éléphantiasis (symptôme tardif), il est presque impossible de retrouver des microfilaires dans le sang. Si cette éléphantiasis touche les jambes affectera le dessous des genoux.
3. Il est aussi possible de retrouver des microfilaires dans les urines.
4. Les tests sérologiques ne permettent pas de faire une distinction d'espèce. Il existe des réactions croisées avec d'autres nématodes et *E. granulosus*.

Loa loa

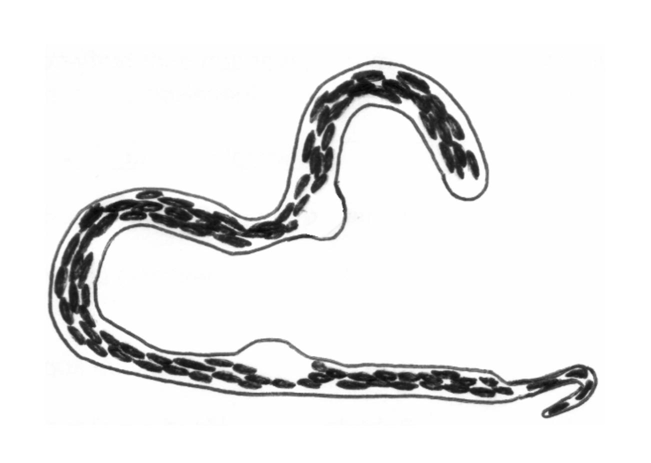
Super Famille :	**Classe :**
Filarioidea	Nématodes

Distribution géographique :	**Nom commun :**	**Pathologie :**
Afrique centrale, Afrique de l'ouest. (zone forestière)	Filariose	• Loase (F). • Loiasis, eye worm disease (En). • Loasis (Es).

Hôtes définitifs :	**Hôtes intermédiaires :**	**Mode de contamination :**
• Homme. • Primates.	**Vecteurs** : Taons *Chrysops* spp.	Pénétration transcutanée active (généralement via la piqûre) des larves infestantes déposées lors de la piqûre par un vecteur infecté. **Localisation de l'adulte :** Tissus sous-cutanés et conjonctives. **Localisation des microfilaires :** Sang.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des microfilaires dans le sang
  - à frais dans une goutte de sang (peu sensible, pas d'identification de l'espèce).
  - en goutte épaisse colorée au Giemsa [hématoxyline ou Carazzi] (identification de l'espèce).
  - en Woo à frais (pas d'identification de l'espèce).
  - en Knott coloré (technique de concentration, étirement des microfilaires).
  - après filtration sur membrane et coloration (très sensible. Usage plus épidémiologique).
- Visualisation du ver adulte dans l'œil (et identification après extraction). [Jusqu'à 7 cm de long].
- Recherche des anticorps sériques.
- Recherche d'ADN spécifique PCR.



Morphologie de la microfilaire (GE, Giemsa) :

Dimensions :	230 à 250 µm.
Diamètre :	5 – 7 µm.
Gaine :	Oui, mais non colorée au Giemsa
Queue :	Effilée et arrondie, avec noyaux jusqu'à l'extrémité.
Espace céphalique :	Court (aussi long que large).
Caractéristiques :	Présence de 2 hernies parfois rosâtres, presque toujours visibles, noyaux ovoïdes jusqu'à l'extrémité.

Autres signes biologiques associés :

- Hyperéosinophilie persistante durant l'infestation.

Confusions possibles :

- Autres microfilaires sanguines ou dermiques.
- Fibres végétales (coton, …).
- Larves d'helminthes durant leur migration somatique.
- Champignons (*Helicosporium*).
- Zoonose (*Dirofilaria* spp, *Microfilaria* spp.)

Remarques :

1. Ces microfilaires sont à périodicité diurne. Les prélèvements sanguins doivent être effectués entre 11 heures et 16 heures.
2. Le développement dans l'homme jusqu'au stade adulte nécessite de 6 à 12 mois. La longévité des vers adultes est estimée entre 4 et 7 ans (jusqu'à 25 ans pour certains auteurs).
3. La microfilarémie est aléatoire. La recherche de microfilaires est assez souvent négative (principalement durant les premières années d'infestation).
4. Il est aussi possible de retrouver exceptionnellement ces microfilaires dans les urines.
5. Les tests sérologiques ne permettent pas de faire une distinction d'espèce. Il existe des réactions croisées avec d'autres nématodes et *E. granulosus*.

Onchocerca volvulus

Super Famille :	Filarioidea	
Classe :	Nématodes	

Distribution géographique :

Afrique centrale et de l'ouest, Yémen.
Amérique centrale, nord-est du Brésil, nord-est du Venezuela.

Nom commun :

Ver des aveugles

Pathologie :

- Onchocercose, cécité des rivières (F)
- River Blindness, onchocerciasis (En)
- Oncocercosis (Es)

Hôtes définitifs :

- Homme.

Hôtes intermédiaires :

Vecteurs :

Simulium spp.

Mode de contamination :

Pénétration transcutanée active (généralement via la piqûre) des larves infestantes déposées lors de la piqûre par un vecteur infecté.

Localisation de l'adulte :

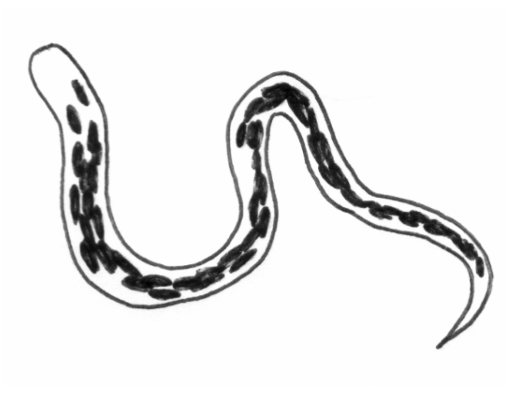
Derme, tissus sous-cutanés. Soit libres soit dans des nodules.

Localisation des microfilaires :

Peau.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche de microfilaires dans une biopsie cutanée exsangue (Skin snip) à frais ou après coloration au Giemsa [hématoxyline ou Carazzi].
- Recherche de microfilaires dans une scarification dermique profonde après coloration au Giemsa.
- Test de Mazzotti (essai pathognomique, technique contre indiquée, risque de réactions allergiques).
- Visualisation des microfilaires dans l'œil (lampe à fentes)
- Recherche des filaires adultes dans les nodules (biopsie ou ponction). La ponction est cependant contre indiquée en raison d'un risque de réaction allergique.
- Recherche des anticorps sériques, principalement IgE.
- Recherche d'ADN spécifique par PCR.



Morphologie de la microfilaire (Giemsa) :

Dimensions :	280 à 320 µm.
Diamètre :	5 – 9 µm.
Gaine :	Non
Queue :	Effilée, pointue, sans noyaux, souvent recourbée.
Espace céphalique :	Long (plus long que large [2/1]).
Caractéristiques :	Noyaux ovoïdes peu visibles individuellement ou rarement bien visibles, premiers et derniers noyaux presque toujours visibles et ovoïdes, queue pointue et vide.

Autres signes biologiques associés :

- Hyperéosinophilie persistante durant l'infestation.

Confusions possibles :

- Autres microfilaires sanguines ou dermiques.
- Fibres végétales (coton, …).
- Champignons (*Helicosporium*).
- Zoonose (*Dirofilaria* spp, *Microfilaria* spp.).

Remarques :

1. Microfilaire apériodique.
2. Il est aussi possible de retrouver *O. volvulus* dans les urines et dans le sang (surtout en cas d'utilisation de Diethylcarbamazine Citrate (DEC), non en cas d'utilisation d'ivermectine) ou dans les liquides d'hydrocèle.
3. Le développement jusqu'au stade adulte nécessite plus de 6 mois. La longévité des vers adultes est estimée à plus de 15 ans. Les microfilaires peuvent survivre jusqu'à 2 ans dans la peau
4. Les scarifications profondes sont toujours contaminées par du sang. Il est donc aussi possible d'y retrouver des microfilaires sanguines.
5. Les tests sérologiques ne permettent pas de faire une distinction d'espèce. Il existe des réactions croisées avec d'autres nématodes et *E. granulosus*.

Mansonella streptocerca

Super Famille :	Classe :
Filarioidea	Nématodes

Distribution géographique :	Nom commun :	Pathologie :
Afrique de l'ouest, Afrique centrale (forêt).	Filariose	**NON (PEU) PATHOGENE.**

Hôtes définitifs :	Hôtes intermédiaires :	
• Homme. • Certains singes.	**Vecteurs** : Maringouins *Culicoides* spp.	**Mode de contamination :** Pénétration transcutanée active (généralement via la piqûre) des larves infestantes déposées lors de la piqûre par un vecteur infecté. **Localisation de l'adulte :** Derme, tissus sous-cutanés. **Localisation des microfilaires :** Peau.

Méthodes diagnostiques :

- Identification de microfilaires retrouvées dans une biopsie cutanée exsangue (Skin snip) à frais ou après coloration au Giemsa.
- Identification de microfilaires retrouvées dans une scarification dermique profonde après coloration au Giemsa.

Morphologie de la microfilaire (Giemsa) :

Dimensions :	180 à 240 µm.
Diamètre :	5 – 6 µm.
Gaine :	Non.
Queue :	Arrondie, noyaux jusqu'à l'extrémité.
Espace céphalique :	Très court (moins long que large).
Caractéristiques :	Minimum 8 noyaux en file indienne à l'extrémité caudale. La queue est presque toujours recourbée en « crosse d'évêque ».

Autres signes biologiques associés :

NON (PEU) PATHOGENE

- Hyperéosinophilie persistante durant l'infestation.

Confusions possibles :

- Autres microfilaires sanguines ou dermiques.
- Fibres végétales (coton, …).
- Champignons (*Helicosporium*).
- Zoonose (*Dirofilaria* spp, *Microfilaria* spp.).

Remarques :

1. Microfilaire non périodique.
2. Les deux microfilaires dermiques (M. streptocerca et O. volvulus) ne se situent pas toujours dans la même zone du corps.
3. Microfilaire non recherchée [puisque non (peu) pathogène, mais à différencier des microfilaires pathogènes].
4. Souvent rencontrée en présence d'autres microfilaires.
5. *Dipetalonema* est l'ancien nom pour *Mansonella*.
6. Les tests sérologiques ne permettent pas de faire une distinction d'espèce. Il existe des réactions croisées avec d'autres nématodes et *E. granulosus*.

Mansonella ozzardi

Super Famille : Filarioidea

Classe : Nématodes

Distribution géographique :

Amérique centrale, Amérique du sud, îles du pacifique, Caraïbes.

Nom commun :

Filariose

Pathologie :

NON (PEU) PATHOGENE

Hôtes définitifs :

- Homme
- Certains singes

Hôtes intermédiaires :

Vecteur :

1. Maringouins (*Culicoides* spp.)
2. *Simulium* spp.

Mode de contamination :

Pénétration transcutanée active (généralement via la piqûre) des larves métacycliques infestantes déposées lors de la piqûre par un vecteur infecté.

Localisation de l'adulte :

Cavité mésentérique, tissus sous péritonéal.

Localisation des microfilaires :

Sang.

Méthodes diagnostiques :

- Identification des microfilaires retrouvées dans le sang :
  - à frais dans une goutte de sang (peu sensible, pas d'identification).
  - en goutte épaisse colorée au Giemsa [hématoxyline ou Carazzi] (identification de l'espèce).
  - en Woo à frais (pas d'identification).
  - en Knott coloré (technique de concentration, étirement des microfilaires).
  - après filtration sur membrane et coloration (très sensible. Usage plus épidémiologique).

Morphologie de la microfilaire (GE, Giemsa) :

Dimensions :	160 à 205 µm.
Diamètre :	3 – 5 µm.
Gaine :	Non.
Queue :	Effilée, pointue, sans noyaux (parfois peu ou pas bien visible).
Espace céphalique :	Très court : Moins long que large.
Caractéristiques :	Queue vide, noyaux en mosaïques.

Autres signes biologiques associés :

NON (PEU) PATHOGENE

- Hyperéosinophilie constante durant l'infestation.

Confusions possibles :

- Autres microfilaires sanguines ou dermiques.
- Fibres végétales (coton, …).
- Larves d'helminthes durant leur migration somatique.
- Champignons (*Helicosporium*).
- Zoonose (*Dirofilaria* spp, *Microfilaria* spp.).

Remarques :

1. Microfilaire non périodique.
2. Microfilaire non recherchée [puisque non (peu) pathogène, mais à différencier des microfilaires pathogènes].
3. *Dipetalonema* est l'ancien nom pour *Mansonella*.
4. Les tests sérologiques ne permettent pas de faire une distinction d'espèce. Il existe des réactions croisées avec d'autres nématodes et *E. granulosus*.

Mansonella perstans

Super Famille : Filarioidea

Classe : Nématodes

Distribution géographique :	Nom commun :	Pathologie :
Afrique tropicale et du nord, Amérique centrale Amérique du sud	Filariose	**NON (PEU) PATHOGENE.**

Hôtes définitifs :	Hôtes intermédiaires :	Mode de contamination :
• Homme • Certains singes	**Vecteurs** : Maringouins *Culicoides* spp.	Pénétration transcutanée active (généralement via la piqûre) des larves métacycliques infestantes déposées lors de la piqûre par un vecteur infecté.

Localisation de l'adulte :

Cavité abdominale, cavité pleurale, (péricarde).

Localisation des microfilaires :

Sang.

Méthodes diagnostiques :

- Identification des microfilaires retrouvées dans le sang :
  - à frais dans une goutte de sang (peu sensible, pas d'identification).
  - en goutte épaisse colorée au Giemsa [hématoxyline ou Carazzi] (identification de l'espèce).
  - en Woo à frais (pas d'identification).
  - en Knott coloré (technique de concentration, étirement des microfilaires).
  - après filtration sur membrane et coloration (très sensible. Usage plus épidémiologique).

Morphologie de la microfilaire (Giemsa) :

Dimensions :	150 à 200 µm.
Diamètre :	3 – 5 µm.
Gaine :	Non.
Queue :	Arrondie, noyaux jusqu'à l'extrémité.
Espace céphalique :	Très court (moins long que large).
Caractéristiques :	Noyaux angulaires, maximum 4 noyaux en file indienne à l'extrémité caudale. Dernier noyau plus gros ou plus foncé.

Autres signes biologiques associés :

NON (PEU) PATHOGENE

- Hyperéosinophilie persistante durant l'infestation.

Confusions possibles :

- Autres microfilaires sanguines ou dermiques.
- Fibres végétales (coton, …).
- Larves d'helminthes durant leur migration somatique.
- Champignons (*Helicosporium*).
- Zoonose (*Dirofilaria* spp, *Microfilaria* spp.).

Remarques :

1. Microfilaire non périodique.
2. En goutte épaisse sur du sang prélevé **sans** anticoagulant, ces microfilaires sont fortement enroulées. Elles sont souvent étirées en présence d'un anticoagulant.
3. Microfilaire non recherchée [puisque non (peu) pathogène, mais à différencier des microfilaires pathogènes].
4. Souvent rencontrée en présence d'autres microfilaires.
5. Le développement jusqu'au stade adulte nécessite quelques mois.
6. *Dipetalonema* est l'ancien nom pour *Mansonella*.
7. Les tests sérologiques ne permettent pas de faire une distinction d'espèce. Il existe des réactions croisées avec d'autres nématodes et *E. granulosus*.

TABLEAU COMPARATIF DES MICROFILAIRES

Espèces Caractéristiques	*Wuchereria bancrofti*	*Brugia malayi*	*Brugia timori*	*Loa loa*	*Mansonella ozzardi*	*Mansonella perstans*	*Mansonella streptocerca*	*Onchocerca volvulus*
Distributions géographiques	Régions tropicales et subtropicales (sauf désert), Turquie (petit foyer résiduel ?)	Asie du sud-est, Inde	Archipel indonésien De Timor à Bali et aux petites îles de la sonde	Afrique centrale Afrique de l'ouest (zone forestière)	Amérique centrale Amérique du sud Pacifique (îles) Caraïbes	Afrique Amérique centrale Amérique du sud	Afrique de l'ouest Afrique centrale (forêts)	Afrique centrale Afrique de l'ouest Yémen Amérique centrale N-E Brésil N-E Vénézuéla
Vecteurs	Moustiques (Culicidés)	Moustiques (Culicidés)	Moustiques (Culicidés)	Taons (*Chrysops* spp.)	Moucherons (Mouches noires)	Moucherons (*Culicoides* spp.)	Moucherons (*Culicoides* spp.)	Mouches noires (*Simulium* spp.)
Pathogénécité	Signes lymphatiques (Œdèmes, Eléphantiasis)	Signes lymphatiques (Œdèmes, Eléphantiasis)	Signes lymphatiques (Œdèmes, Eléphantiasis)	Prurit Œdème fugace Cardiaque	?	?	?	Dermite Cécité
Localisation de L'adulte	Lymphatique	Lymphatique	Lymphatique	Tissus sous cutanés	Mésentère	Mésentère	Derme	Derme
Localisation de la microfilaire	Sang	Sang	Sang	Sang	Sang	Sang	Derme	Derme
Diagnostic	Examen du sang	Examen du sang	Examen du sang	Examen du sang	Examen du sang	Examen du sang	Peau	Peau
Périodicité [1]	Nocturne [2]	Nocturne [3]	Nocturne	Diurne	Apériodique	Apériodique	Apériodique	Apériodique
Gaine	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Non	Non	Non
Diamètre	7,5 - 10 µm	5 – 6 µm	4,4 – 6,8 µm	5 – 7 µm	3 – 5 µm	3 – 5 µm	5 – 6 µm	5 – 9 µm
Longueur **Frottis et GE** **Formol** **Biopsie**	 **260** [240 - 300] **300** [275 - 320] -	 **220** [175 – 230] **270** [240 – 300] -	 **290** [265 – 325] **360** [330 – 385] -	 **240** [230 – 250] **280** [270 – 300] -	 **180** [160 – 205] **225** [200 – 255] -	 **195** [150 – 200] **200** [180 – 225] -	 - - **210** [180 – 240]	 - - **310** [280 – 320]
Queue	Effilée Sans noyaux	Effilée Avant dernier et dernier noyaux très espacés	Effilée Avant dernier et dernier noyaux très espacés	Effilée, légèrement arrondie Noyaux jusqu'à l'extrémité	Pointue Sans noyaux	**Arrondie** Noyaux jusqu'à l'extrémité	**Arrondie** Noyaux jusqu'à l'extrémité « crosse d'évêque »	Effilée Sans noyaux Recourbée
Espace céphalique	Court : 1/1 Aussi long que large	Long : 2/1 2 x plus long que large	Très long : 3/1 (2) 3 x plus long que large	Court : 1/1 Aussi long que large	Très court	Très court	Très court	Long Plus long que large
Caractéristiques	Noyaux bien individualisés se terminant avant l'extrémité Gaine rarement colorée en rose au Giemsa	2 noyaux à l'extrémité caudale Gaine souvent **colorée** en rose au Giemsa (sauf sub-périodiques)	2 noyaux à l'extrémité caudale Gaine non colorée au Giemsa	Hernies Rangée simple de noyaux jusqu'à l'extrémité Gaine non colorée au Giemsa	Queue vide	4 noyaux en file indienne à l'extrémité Noyaux angulaires. Dernier noyau plus gros ou plus foncé	8 noyaux en file indienne à l'extrémité	Queue pointue et vide

[1] Si les microfilaires sont retrouvées uniquement durant la nuit, il s'agit d'une microfilaire à périodicité nocturne [maximum entre 23 heures et 4 heures], Si les microfilaires ne circulent dans le sang que durant la journée, il s'agit de microfilaires à périodicité diurne [maximum entre 11 heures et 16 heures]. Les microfilaires subpériodiques sont retrouvées tant le jour que la nuit, mais avec une augmentation significative soit le jour (subpériodicité diurne) soit la nuit (subpériodicité nocturne).

[2] Subpériodicité diurne en Nouvelle Calédonie et en Polynésie, subpériodicité nocturne en Thaïlande.

[3] Subpériodicité nocturne dans certaines parties de l'Indonésie, de la Malaisie, des Philippines et de la Thaïlande.

HELMINTHES
(Métazoaires)

- TREMATODES
- CESTODES
- NEMATODES

PROTOZOAIRES

- **AMIBES**
- FLAGELLES
- CILIES
- SPOROZOAIRES

CHAMPIGNONS
ET
BACTERIES

CLASSIFICATION
INCONNUE

Entamoeba histolytica

Famille : Entamoebidae

Classe : Rhizopodea

Distribution géographique :

Cosmopolite

Nom commun :

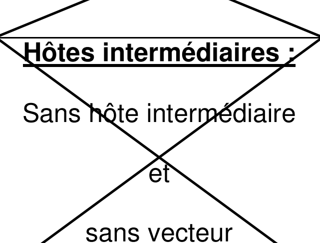
Pathologie :

- Amibiase (F).
- Amebiasis (En).
- Amibiasis (Es).

Hôtes définitifs :

- Homme
- Primates
- Autres animaux : (Chiens, chats,…).

Hôtes intermédiaires :



Sans hôte intermédiaire

et

sans vecteur

Mode de contamination :

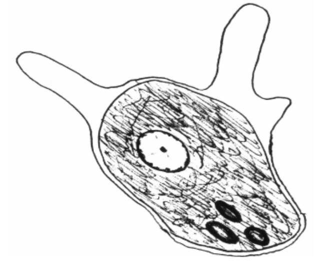
Féco-orale : Ingestion de kystes mûrs.
Contacts sexuels : Kystes et trophozoïtes

Localisation des trophozoïtes et des kystes :

Forme magna :	Muqueuse et sous-muqueuse intestinale, (foie, poumon, système nerveux central, etc.).
Forme minuta :	Lumière intestinale (Colon).

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des formes végétatives hématophages dans les selles, (dans des pus d'abcès, dans des biopsies rectales ou dans les crachats) : Examen direct.
- Recherche des kystes dans les selles : Examen direct, coloration au lugol, technique de concentration par sédimentation.
- Recherche de coproantigènes en Elisa (galactose adhesins : N-acetyl-D-galactosamine-binding lectin).
- Recherche d'ADN spécifique par PCR (différents prélèvements)
- Sérologie : Recherche d'anticorps sériques. (IFAT, ELISA, IHA, agglutination directe).
- Différentiation entre *E. histolytica* de *E. dispar* sur différents prélèvements: PCR, ELISA (galactose adhesins).



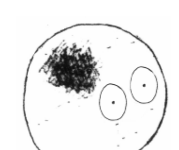
Forme magna
20-60 µm

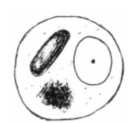


Forme minuta
10-60 µm

Morphologie des trophozoïtes :

Dimensions :	10 – 60 µm. > 20 µm pour les formes invasives.
Mouvements :	Pseudopodes fins et arrondis, déplacement orienté et vif.
Noyau :	Peu visible, caryosome central, grains de chromatine périphérique réguliers.
Contenu :	Granuleux.
Caractéristiques :	Globules rouges ingérés pour les formes hématophages.





Morphologie des kystes :

Dimensions :	10 – 20 µm.
Forme :	Sphérique ou ovoïde.
Paroi :	Mince.
Noyaux :	Maximum 4 noyaux, le plus souvent 1 à 2, caryosome souvent central.
Contenu :	Granuleux.
Caractéristiques :	Kyste jeune à 1 noyau, parfois corps chromatoïde à extrémités arrondies et une masse diffuse de glycogène.

Autres signes biologiques associés :

- Amibiase extra intestinale : Hyperleucocytose neutrophiles, VS augmentée.
- Diarrhée sanglante sans fièvre.

Confusions possibles :

- *Entamoeba dispar* (kystes et formes végétatives).
- Autres kystes de protozoaires.
- Autres formes végétatives d'amibes
- Macrophages mobiles (formes végétative).
- Leucocytes (kystes).

Remarques :

1. **La distinction morphologique sur base des kystes et des trophozoïtes entre une forme jamais pathogène (*E. dispar*) et une forme parfois pathogène (*E. histolytica*) n'est pas possible : seule la présence de trophozoïtes hématophages (forme magna) donne un diagnostic de certitude d'amibiase. Une différentiation par PCR ou par ELISA peut aussi être envisagée.**
2. ***Entamoeba dispar* est largement plus répandue chez l'homme qu'*Entamoeba histolytica* : Parmi les infestations observées pour les patients de la polyclinique de l'Institut de Médecine Tropicale, environ 94 % des infestations à *E. histolytica/* ou *dispar* sont en fait des infestations à *E. dispar*).**
3. Les trophozoïtes hématophages ne sont retrouvés que dans les selles glairo-sanglantes. Les selles doivent être examinées très rapidement après émission (immobilisation rapide des trophozoïtes, qui deviennent alors introuvables). Les formes hématophages apparaissent 2 à 4 semaines après l'infestation. Les formes hématophages (magna) peuvent aussi être retrouvées dans des pus (généralement colorés : jaunes, bruns ou chocolats). L'examen parasitologique d'un pus est cependant souvent négatif puisque les trophozoïtes se trouvent à la périphérie du kyste et que la ponction se fait souvent au centre.
4. *E. histolytica* (forme *minuta*) vit dans la lumière du caecum, du côlon et du rectum. Le parasite devient parfois pathogène (forme *magna* ou *histolytica*) avec invasion de la muqueuse et de la sous muqueuse du côlon et du rectum. Un essaimage vers le foie, les poumons, le système nerveux central et d'autres organes est alors possible. *E. dispar* n'est jamais pathogène. Seuls les trophozoïtes *E. histolytica minuta* et *E. dispar* peuvent s'enkyster. En cas d'amibiase intestinale, les kystes ne seront jamais présents dans les selles.
5. *Entamoeba dispar* est largement plus répandue chez l'homme qu'*Entamoeba histolytica* : Parmi les infestations observées pour les patients de la polyclinique de l'Institut de Médecine Tropicale, plus de 97 % des infestations à *E. histolytica/* ou *dispar* sont en fait des infestations à *E. dispar*).
6. La sérologie n'est utile que dans les amibiases invasives : la sensibilité est de l'ordre de 95 % pour les amibiases extra intestinales, de l'ordre de 70 % pour les amibiases intestinales invasives et de l'ordre de 10 % pour des porteurs asymptomatiques de kystes d'*E. histolytica*. La spécificité est de l'ordre de 95 %. Après guérison, la sérologie reste positive quelques mois.
7. La distinction entre *E. histolytica* et *E. dispar* par ELISA (galactose adhésines) aurait une sensibilité de l'ordre de 70 % et une spécificité de l'ordre de 97 %.
8. *E. moshkovski* et *E. dispar*, morphologiquement identique seraient soit le même protozoaire soit des espèces différentes. *E. moshkovski,* tout comme *E. dispar* ne serait jamais pathogène.
9. Les kystes ne sont pas détruits par le niveau de chlore habituellement utilisé pour la purification de l'eau potable (la filtration est donc nécessaire).

Entamoeba dispar

Famille : Entamoebidae

Classe : Rhizopodea

Distribution géographique : Cosmopolite

Nom commun :

Pathologie : NON PATHOGENE

Hôtes définitifs :

- Homme
- Primates,
- Autres animaux.

Hôtes intermédiaires : Sans hôte intermédiaire et sans vecteur

Mode de contamination : Féco-orale : Ingestion de kystes mûrs.

Localisation des trophozoïtes et des kystes : Lumière intestinale (Colon).

Méthodes diagnostiques :

- Identification des formes végétatives dans les selles : Examen direct.
- Identification des kystes dans les selles : Examen direct, coloration au lugol, technique de concentration par sédimentation.
- Différentiation entre *E. histolytica* et *E. dispar* dans les selles: PCR, ELISA (galactose adhesins).




Morphologie des trophozoïtes :

Dimensions :	10 – 60 µm
Mouvements :	Pseudopodes fins et arrondis, déplacement orienté et vif.
Noyau :	Peu visible, caryosome central, grains de chromatine périphérique réguliers.
Contenu :	Granuleux.
Caractéristiques :	Jamais de globules rouges ingérés.

Morphologie des kystes :

Dimensions :	10 – 20 µm.
Forme :	Sphérique ou ovoïde.
Paroi :	Mince.
Noyaux :	Maximum 4 noyaux, le plus souvent 1 à 2.
Contenu :	Granuleux.
Caractéristiques :	Kyste jeune à 1 noyau, parfois présence d'un corps chromatoïde à extrémités arrondies et une masse diffuse de glycogène.

Autres signes biologiques associés : NON PATHOGENE

Confusions possibles :

- *Entamoeba histolytica*. (kystes et trophozoïtes).
- Autres kystes de protozoaires.
- Macrophages mobiles.
- Autres formes végétatives d'amibes.
- Leucocytes (kystes).

Remarques :

1. **La distinction morphologique sur base des kystes et des trophozoïtes entre une forme jamais pathogène (*E. dispar*) et une forme parfois pathogène (*E. histolytica*) n'est pas possible : seule la présence de trophozoïtes hématophages donne un diagnostic de certitude d'amibiase. Une différentiation par PCR ou par ELISA peut aussi être envisagée.**
2. ***Entamoeba dispar* est largement plus répandue chez l'homme qu'*Entamoeba histolytica* : Parmi les infestations observées pour les patients de la polyclinique de l'Institut de Médecine Tropicale, environ 94 % des infestations à *E. histolytica/* ou *dispar* sont en fait des infestations à *E. dispar*).**
3. Les trophozoïtes ne se retrouvent que dans des selles diarrhéiques. Comme la mobilité est un élément du diagnostic, l'examen doit être réalisé le plus rapidement possible après émission des selles.
4. Les kystes ne se retrouvent que dans des selles non diarrhéiques.
5. La distinction entre *E. histolytica* et *E. dispar* (ELISA, galactose adhésine) aurait une sensibilité de l'ordre de 70 % et une spécificité de l'ordre de 97 %.
6. *E. moshkovski* et *E. dispar*, morphologiquement identique seraient soit le même protozoaire soit des espèces différentes. *E. moshkovski* ne serait cependant jamais pathogène.

Entamoeba hartmanni		**Famille :** Entamoebidae	**Classe :** Rhizopodea
Distribution géographique : Cosmopolite	**Nom commun :**	**Pathologie :** **NON PATHOGENE**	
Hôtes définitifs : • Homme	**Hôtes intermédiaires :** Sans hôte intermédiaire et sans vecteur	**Mode de contamination :** Féco-orale : Ingestion de kystes mûrs. **Localisation des trophozoïtes et des kystes :** Lumière du côlon.	

Méthodes diagnostiques :

- Identification des formes végétatives dans les selles : Examen direct.
- Identification des kystes dans les selles : Examen direct, coloration au lugol, technique de concentration par sédimentation.

Morphologie des trophozoïtes :

Dimensions :	5 – 12 µm.
Mouvements :	Pseudopodes arrondis, déplacement orienté.
Noyau :	Peu visible, caryosome central, petits grains de chromatine périphérique réguliers.
Contenu :	Granuleux.
Caractéristiques :	Jamais de globules rouges ingérés.

Morphologie des kystes :

Dimensions :	5 – 10 µm.
Forme :	Sphérique ou ovoïde.
Paroi :	Fine.
Noyaux :	En général 1 à 2, maximum 4 noyaux.
Contenu :	Granuleux, parfois présence d'un corps chromatoïde à extrémités arrondies et d'une masse diffuse de glycogène.
Caractéristiques :	« Petit *histolytica* »

Autres signes biologiques associés :

NON PATHOGENE

Confusions possibles :

- Autres trophozoïtes d'amibes.
- Autres kystes de protozoaires.
- Macrophages mobiles (trophozoïtes).
- Leucocytes (kystes).

Remarques :

1. Comme ce protozoaire n'est pas pathogène, il n'est pas à rechercher, mais doit être différencié d'*E. histolytica*.
2. La différentiation entre les kystes d'*E. histolytica/dispar* et les kystes d'*E. hartmanni* ne peut se faire que sur base de la taille (utilisation d'un micromètre oculaire).

Entamoeba coli

Famille : Entamoebidae

Classe : Rhizopodea

Distribution géographique :

Cosmopolite

Nom commun :

Pathologie :

NON PATHOGENE

Hôtes définitifs :

- Homme
- Primates
- Chiens
- Porcs

Hôtes intermédiaires :

Sans hôte intermédiaire

et

sans vecteur

Mode de contamination :

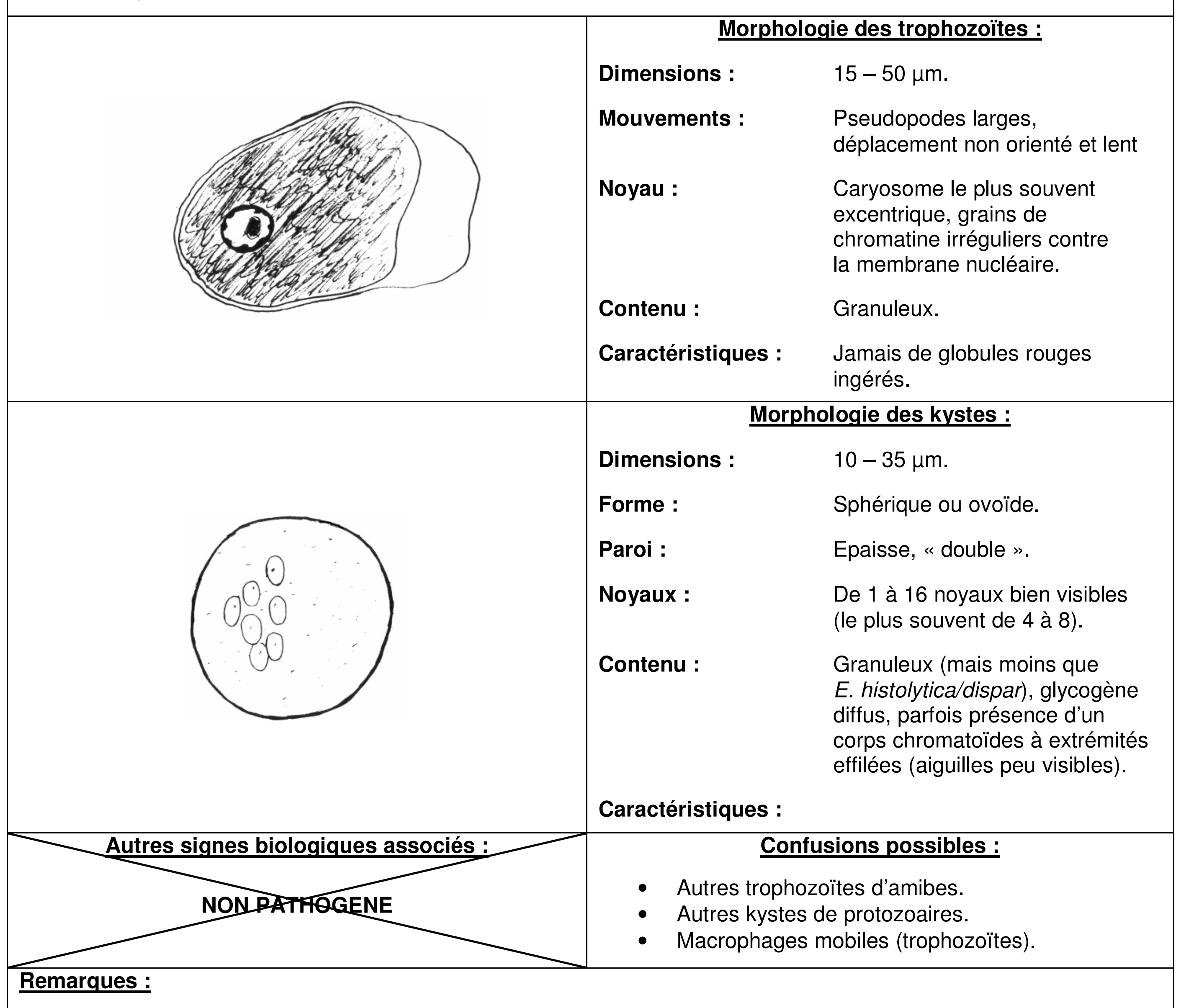
Féco-orale : Ingestion de kystes mûrs.

Localisation des trophozoïtes et des kystes :

Lumière du côlon.

Méthodes diagnostiques :

- Identification des formes végétatives dans les selles : Examen direct.
- Identification des kystes dans les selles : Examen direct, coloration au lugol, technique de concentration par sédimentation.



Morphologie des trophozoïtes :

Dimensions :	15 – 50 µm.
Mouvements :	Pseudopodes larges, déplacement non orienté et lent
Noyau :	Caryosome le plus souvent excentrique, grains de chromatine irréguliers contre la membrane nucléaire.
Contenu :	Granuleux.
Caractéristiques :	Jamais de globules rouges ingérés.

Morphologie des kystes :

Dimensions :	10 – 35 µm.
Forme :	Sphérique ou ovoïde.
Paroi :	Epaisse, « double ».
Noyaux :	De 1 à 16 noyaux bien visibles (le plus souvent de 4 à 8).
Contenu :	Granuleux (mais moins que *E. histolytica/dispar*), glycogène diffus, parfois présence d'un corps chromatoïdes à extrémités effilées (aiguilles peu visibles).
Caractéristiques :	

Autres signes biologiques associés :

NON PATHOGENE

Confusions possibles :

- Autres trophozoïtes d'amibes.
- Autres kystes de protozoaires.
- Macrophages mobiles (trophozoïtes).

Remarques :

1. Comme ce protozoaire n'est pas pathogène, il n'est pas à rechercher, mais doit être différencié d'*E. histolytica*.

Endolimax nanus

Endolimax nanus	**Famille :** Entamoebidae	**Classe :** Rhizopodea

Distribution géographique :

Cosmopolite

Nom commun :

Pathologie :

NON PATHOGENE

Hôtes définitifs :

- Hommes.
- Primates.
- Porcs.
- Chiens.

Hôtes intermédiaires :

Sans hôte intermédiaire et sans vecteur

Mode de contamination :

Féco-orale : Ingestion de kystes mûrs.

Localisation des trophozoïtes et des kystes :

Lumière du côlon.

Méthodes diagnostiques :

- Identification des formes végétatives dans les selles : Examen direct.
- Identification des kystes dans les selles : Examen direct, coloration au lugol, technique de concentration par sédimentation.

Morphologie des trophozoïtes :

Dimensions :	6 – 12 µm.
Mouvements :	1 pseudopodes à la fois, déplacement non orienté et lent
Noyau :	Grand caryosome compact et irrégulier, pas de chromatine périphérique.
Contenu :	Granuleux.
Caractéristiques :	Jamais de globules rouges ingérés.

Morphologie des kystes :

Dimensions :	5 – 10 µm.
Forme :	Ovoïde, parfois sphérique.
Paroi :	Très mince.
Noyaux :	Maximum 4 petits noyaux, peu visibles (points réfringents).
Contenu :	Cytoplasme uniformément coloré (très pâle).
Caractéristiques :	

Autres signes biologiques associés :

NON PATHOGENE

Confusions possibles :

- Autres amibes (trophozoïtes et kystes).
- Autres protozoaires (kystes).
- Macrophages mobiles (trophozoïtes).
- Champignons (*Geotrichum* spp).
- Levures.

Remarques :

1. Comme ce protozoaire n'est pas pathogène, il n'est pas à rechercher, mais doit être différencié d'*E. histolytica/dispar*.
2. L'ancien non de cette amibe était *Endolimax nana*.

Iodamoeba butschlii

Famille :	**Classe :**
Entamoebidae	Rhizopodea

Distribution géographique :

Cosmopolite

Nom commun :

Pathologie :

NON PATHOGENE

Hôtes définitifs :

- Homme
- Primates
- Porcs

Hôtes intermédiaires :

Sans hôte intermédiaire

et

sans vecteur

Mode de contamination :

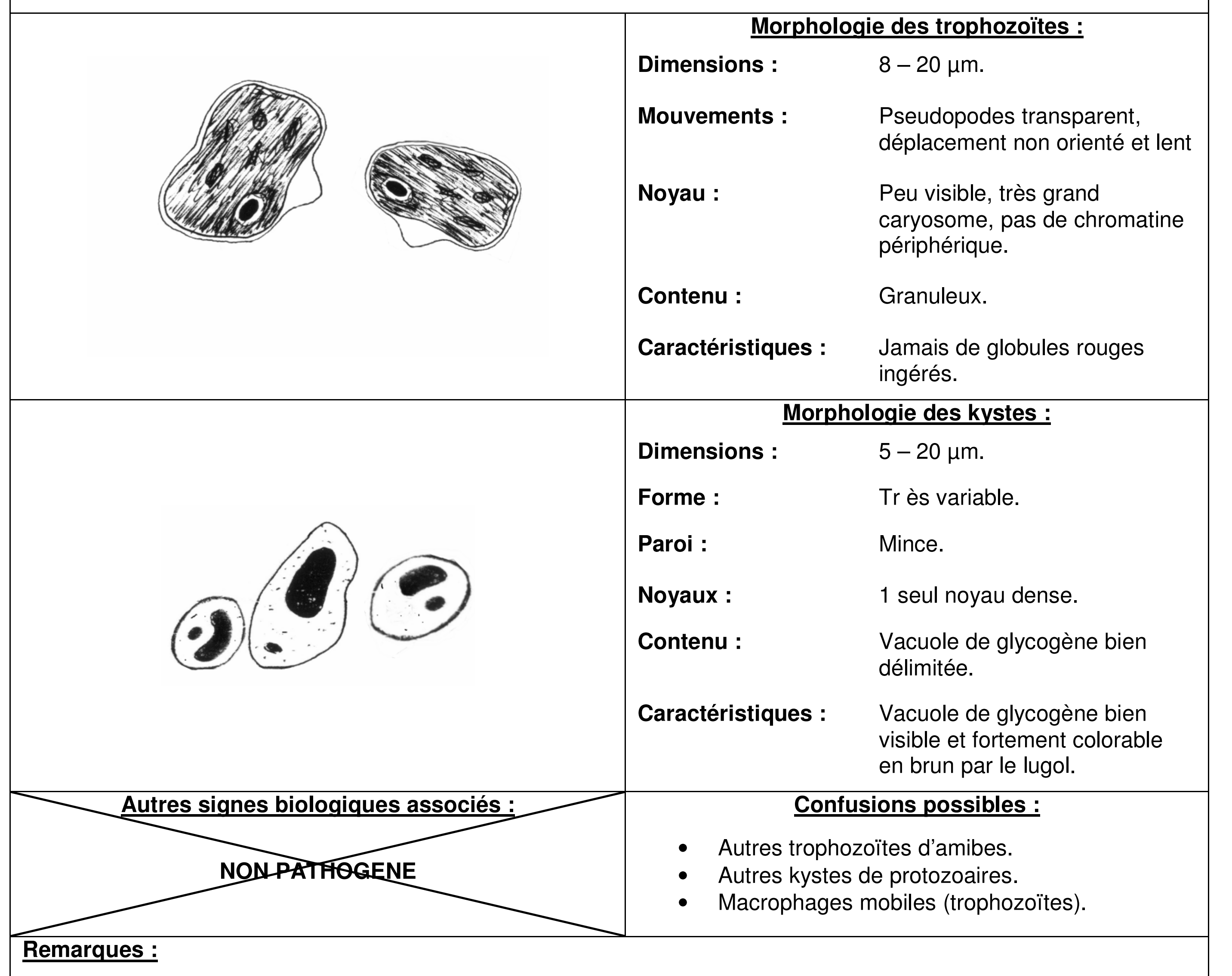
Féco-orale : Ingestion de kystes mûrs.

Localisation des trophozoïtes et des kystes :

Lumière du côlon.

Méthodes diagnostiques :

- Identification des formes végétatives dans les selles : Examen direct.
- Identification des kystes dans les selles : Examen direct, coloration au lugol, technique de concentration par sédimentation.



Morphologie des trophozoïtes :

Dimensions : 8 – 20 µm.

Mouvements : Pseudopodes transparent, déplacement non orienté et lent

Noyau : Peu visible, très grand caryosome, pas de chromatine périphérique.

Contenu : Granuleux.

Caractéristiques : Jamais de globules rouges ingérés.

Morphologie des kystes :

Dimensions : 5 – 20 µm.

Forme : Tr ès variable.

Paroi : Mince.

Noyaux : 1 seul noyau dense.

Contenu : Vacuole de glycogène bien délimitée.

Caractéristiques : Vacuole de glycogène bien visible et fortement colorable en brun par le lugol.

Autres signes biologiques associés :

NON PATHOGENE

Confusions possibles :

- Autres trophozoïtes d'amibes.
- Autres kystes de protozoaires.
- Macrophages mobiles (trophozoïtes).

Remarques :

1. Comme ce protozoaire n'est pas pathogène, il n'est pas à rechercher, mais doit être différencié d'*E. histolytica*.
2. Le contact des selles avec du formol ou de l'éther (lors de la fixation ou de techniques d'enrichissements) limite très souvent la colorabilité de la vacuole de glycogène par le lugol.
3. L'ancien non de cette amibe était *Pseudolimax butschlii*.

Entamoeba gingivalis

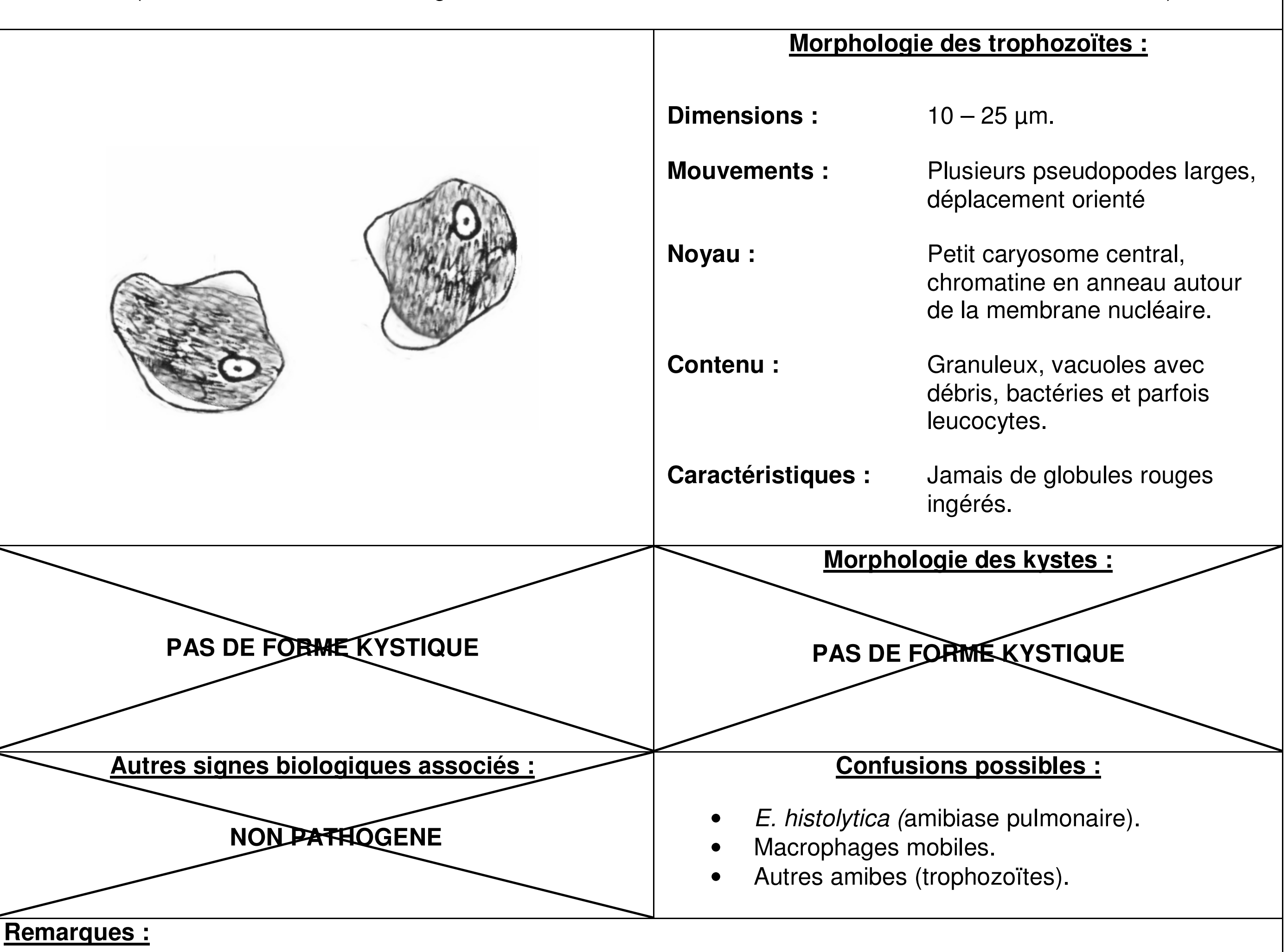
Famille :	**Classe :**
Entamoebidae	Rhizopodea

Distribution géographique :	**Nom commun :**	**Pathologie :**
Cosmopolite		NON PATHOGENE

Hôtes définitifs :	**Hôtes intermédiaires :**	**Mode de contamination :**
• Homme. • Chien. • Cheval.	Sans hôte intermédiaire et sans vecteur	Contact oral – oral (baiser). **Localisation des trophozoïtes :** Cavité buccale.

Méthodes diagnostiques :

- (identification des formes végétatives dans la salive ou dans des frottis dentaires : Examen direct).



Morphologie des trophozoïtes :

Dimensions :	10 – 25 µm.
Mouvements :	Plusieurs pseudopodes larges, déplacement orienté
Noyau :	Petit caryosome central, chromatine en anneau autour de la membrane nucléaire.
Contenu :	Granuleux, vacuoles avec débris, bactéries et parfois leucocytes.
Caractéristiques :	Jamais de globules rouges ingérés.

	Morphologie des kystes :
PAS DE FORME KYSTIQUE	**PAS DE FORME KYSTIQUE**

Autres signes biologiques associés :	**Confusions possibles :**
NON PATHOGENE	• *E. histolytica (*amibiase pulmonaire). • Macrophages mobiles. • Autres amibes (trophozoïtes).

Remarques :

1. Amibe non pathogène vivant dans la cavité buccale, qui se nourrit de cellules épithéliales mortes, de bactéries et d'autre débris.
2. *E. gingivalis* ne doit pas être confondue avec des trophozoïtes d'*E. histolytica* éventuellement présents dans le crachat en cas d'amibiase pulmonaire. Les trophozoïtes d'*E. histolytica* contiennent cependant toujours des globules rouges ingérés.
3. Les trophozoïtes avalés sont détruits dans l'estomac. Et comme cette amibe ne forme pas de kyste, elle n'est jamais retrouvée dans les selles.
4. La présence d'*E. gingivalis* dans la salive indique le plus souvent un manque d'hygiène buccal.

# *Naegleria fowleri*		**Famille :** Vahlkampfiidae	**Classe :** Rhizopodea
Distribution géographique : Cosmopolite	**Nom commun :**	**Pathologie :** **Exceptionnelle** • Méningo-encéphalite amibienne primitive (F). • Primary amebic meingoencephalitis (En). • Menigoencefalitis amibiana primaria (Es).	
Hôtes définitifs : Organisme libre dans la nature Accidentellement : Homme	**Hôtes intermédiaires :** Sans hôte intermédiaire et sans vecteur	**Mode de contamination :** Contact nasal avec de l'eau contaminée. **Localisation des trophozoïtes amiboïdes :** Système nerveux central.	

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des trophozoïtes amiboïdes dans le LCR : Examen à frais, coloration de Giemsa, culture.
- Identification des amibes par immunofluorescence (Anticorps spécifiques marqués).
- [biopsie cérébrale].

Morphologie des trophozoïtes amiboïdes :
Liquide Céphalo-Rachidien

Dimensions :	10 – 20 µm.
Mouvements :	Très actifs, pseudopodes arrondis « explosifs ».
Noyau :	Un grand noyau avec un grand caryosome.
Contenu :	Nombreuses vacuoles.
Caractéristiques :	Mouvements « explosifs ».

FORME LIBRE DANS L'EAU
[et EXCEPTIONNELLEMENT DANS LE LCR]

Morphologie des trophozoïtes flagellés :
Eau [LCR]

Dimensions :	10 – 20 µm.
Mouvements :	
Noyau :	1 noyau.
Contenu :	
Caractéristiques :	2 à 4 flagelles

FORME NON RENCONTREE CHEZ L'HOMME
UNIQUEMENT LIBRE DANS L'EAU

Morphologie des kystes :
Eau

Dimensions :	10 – 20 µm.
Forme :	Ovoïde.
Paroi :	Double, épaisse, lisse.
Noyau :	1 seul noyau.
Contenu :	
Caractéristiques :	

Autres signes biologiques associés :

Confusions possibles :

- *Acanthamoeba* spp.
- *Balamuthia mandrillaris.*
- Macrophages mobiles.
- Autres trophozoïtes d'amibes (contaminants).

Remarques :

1. *Naegleria* spp. et les amibes du genre *Acanthamoeba* spp. sont des organismes libres trouvés habituellement dans l'eau (lacs, piscines, eau de distribution, eau des systèmes de chauffage ou de conditionnement d'air,…). Leur température optimale de multiplication est de 35 °C. *Naegleria fowleri,* seule espèce occasionnellement pathogène pour l'homme, se retrouve plus dans les eaux chaudes (20-25°C), les A*canthamoeba* supportent des températures plus basses. *Balamuthia mandrillaris* n'a jamais été retrouvée dans l'environnement.
2. La méningo-encéphalite amibienne primitive a tendance à apparaître comme une petite épidémie chez des individus qui simultanément ont eu un contact avec de l'eau contaminée (piscine,…).
3. *Naegleria fowleri* est une amibe particulière puisqu'elle présente 3 formes dans son cycle évolutif : le trophozoïte amiboïde (forme parasitaire), le trophozoïte flagellé (forme libre qui se multiplie, exceptionnellement retrouvé dans le LCR) et le kyste (forme résistante dans le milieu extérieur). Les kystes résistent bien à la dessiccation, mais mal au chlore (sensibles à 4 ppm).
4. Dans une méningo-encéphalite amibienne primitive, on retrouve un liquide céphalo-rachidien purulent, avec prédominance de polynucléaires (500-20.000 cellules/mm³ de LCR), une hyperalbuminorachie, un glycorachie normale ou abaissée, des examens bactériologiques négatifs et la présence d'amibes très mobiles.

# *Acanthamoeba* spp.	**Famille :** Hartmanellidae	**Classe :** Rhizopodea

Distribution géographique :	**Nom commun :**	**Pathologie :**
Cosmopolite		**Encéphalite très exceptionnelle** • Ulcère cornéen amibien, [Encéphalite granuleuse amibienne] (F). • Keratitis and corneal amebic ulcer, [Chronic granulomatous amebic encephalitis] (En). • Ulceras corneales amibiana [Encefalitis amibiana granulosa] (Es).
Hôtes définitifs :	**Hôtes intermédiaires :**	**Mode de contamination :**
Organisme libre dans la nature Accidentellement : Homme	Sans hôte intermédiaire et sans vecteur	Contact cutané (oculaire) avec de l'eau contaminée. **Localisation des parasites :** Cutanée, oculaire, [Système nerveux central].

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des trophozoïtes amiboïdes et des kystes dans des frottis cornéens : Examen à frais, coloration au Giemsa, …
- Recherche des trophozoïtes amiboïdes et des kystes dans des biopsies (peau, cornée, tissus cérébral) : Examen à frais, coloration au Giemsa, …
- Identification des amibes par immunofluorescence (Anticorps spécifiques marqués).
- [Culture].
- [Recherche des trophozoïtes amiboïdes et des kystes dans le LCR : Examen à frais, coloration au Giemsa, …].

Morphologie des trophozoïtes amiboïdes :

Dimensions :	10 – 40 µm.
Mouvements :	Lent, pseudopodes spiculés.
Noyau :	Un grand noyau avec un grand caryosome.
Contenu :	Nombreuses vacuoles alimentaires.
Caractéristiques :	Pseudopodes effilés ou filamenteux.

Morphologie des kystes :

Dimensions :	10 – 20 µm.
Forme :	Ovoïde.
Paroi :	Double, à paroi extérieure plissée.
Noyau :	1 seul noyau, pas/peu visible.
Contenu :	
Caractéristiques :	Kystes d'aspect polygonal.

Autres signes biologiques associés :

Confusions possibles :

- *Naegleria* spp.
- *Balamuthia mandrillaris.*
- Macrophages mobiles.
- Autres amibes (kyste ou trophozoïtes contaminants).
- Spores végétales (kystes).

Remarques :

1. *Naegleria* spp. et les amibes du genre *Acanthamoeba* spp. sont des organismes libres trouvés habituellement dans l'eau (lacs, piscines, eau de distribution, eau des systèmes de chauffage ou de conditionnement d'air,…). Leur température optimale de multiplication est de 35 °C. les A*canthamoeba* (lacs, etc.) supportent des températures plus basses que Naegleria fowleri (piscines etc.). Différentes espèces d'*Acanthamoeba* sont parfois pathogènes (opportunistes) : *A. polyphaga, A. castellani, A. culbertsoni, A. astronyxis, A. hatchetti, A. rhysodes*, … *Balamuthia mandrillaris* n'a jamais été retrouvée dans l'environnement.
2. Contrairement à *Naegleria fowleri*, *B. mandrillaris* et les amibes du genre *Acanthamoeba* n'ont que deux formes : une forme amiboïde et une forme kystique.
3. Les amibes du genre *Acanthamoeba* et *Balamuthia* sont morphologiquement identique en microscopie optique.
4. Ces deux amibes provoquent des kératites, suite à des lésions ou des irritations de la cornées (greffe, traumatisme, lentilles de contacts,…) ou des encéphalites (opportunistes, suite à une déficience immunologique).
5. Dans une encéphalite granuleuse amibienne, on retrouve un liquide céphalo-rachidien clair, avec prédominance de mononucléaires, une hyperalbuminorachie, un glycorachie normale ou abaissée, des examens bactériologiques négatifs et la présence d'amibes mobiles (très difficiles) et de kystes polygonaux.

HELMINTHES
(Métazoaires)

- TREMATODES
- CESTODES
- NEMATODES

PROTOZOAIRES

- AMIBES
- **FLAGELLES**
- CILIES
- SPOROZOAIRES

CHAMPIGNONS
ET
BACTERIES

CLASSIFICATION
INCONNUE

Dientamoeba fragilis

Super Famille : Monocercomonadidea

Classe : Rhizopodea

Distribution géographique :

Cosmopolite

Nom commun :

Pathologie :

Pas de nom spécifique pour la pathologie (encore hypothétique) causée par ce parasite.

Hôtes définitifs :

- Hommes.

Hôtes intermédiaires :

Sans hôte intermédiaire

Et

sans vecteur

Mode de contamination :

- Féco-orale : Ingestion des trophozoïtes ?
- Transmission hypothétique via les œufs des helminthes intestinaux (en particulier les œufs d'*Enterobius vermicularis*) ?

Localisation des trophozoïtes :

Lumière du côlon.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des trophozoïtes dans les selles : Colorations permanentes (**hématoxyline ferrique**, noir de chlorazol, ...).
- [Identification des trophozoïtes dans les selles : Examen à frais, suivi d'une coloration permanente].
- [Culture sur milieux xéniques (Robinson par exemple)].
- [Sérologie : Recherche d'anticorps spécifiques dans le sérum].
- Recherche d'ADN spécifique par PCR dans les selles.

Morphologie des trophozoïtes :

(coloration permanente)

Dimensions :	4 – 20 µm.
Mouvements :	Très mobile à frais, [immobile après fixation et coloration], les pseudopodes sont cependant parfois encore visibles.
Noyau :	1 ou 2 noyaux parfois reliées par un centrodesmosome, chromatine fragmentée en 4 à 8 masses , pas de chromatine périphérique.
Caractéristiques :	Prédominance des formes bi-nucléées (+ /- 60 %), noyaux fragmentés caractéristiques.

PAS DE FORME KYSTIQUE

Morphologie des kystes :

PAS DE FORME KYSTIQUE

Autres signes biologiques associés :

Pathologie encore hypothétique

Diarrhée muqueuse non sanglante ?

Confusions possibles :

- Autres amibes (trophozoïtes).
- Macrophages mobiles (examen à frais).
- *Endolimax nanus* (kystes et trophozoïtes, dans les colorations permanentes).

Remarques :

1. Le pouvoir pathogène exact de ce protozoaire n'est pas encore prouvé.
2. Comme ce parasite ne forme pas de kyste et que les trophozoïtes sont très fragiles, l'échantillon de selles doit être fixé immédiatement après émission (par du SAF par exemple).
3. Seule la morphologie typique des noyaux après coloration permanente permet l'identification de ce flagellé.
4. L'examen microscopique (grossissement de 1.000 x) des préparations après coloration permanente (hématoxyline ferrique par exemple) est fastidieuse et nécessite une grande expérience.
5. Cet organisme, classé dans les flagellés sur base d'études génétiques, ne possède cependant pas de stade flagellé. Par son mode de locomotion et sa morphologie, il ressemble cependant plus à une amibe.

Giardia lamblia

Famille : Hexamitidae

Classe : Zoomastigophorea

Distribution géographique :

Cosmopolite.

Nom commun :

Pathologie :

- Giardiase ou Giardiose (F).
- Giardiasis (En).
- Giardiasis (Es).

Hôtes définitifs :

- Hommes (réservoir)
- Primates
- Rongeurs (réservoir ?)
- (Porc ?)

Hôtes intermédiaires :

Sans hôte intermédiaire
Et
sans vecteur

Mode de contamination :

Féco-orale : Ingestion de kystes.

Localisation des trophozoïtes et des kystes :

Duodénum et premier quart de l'intestin.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des formes végétatives dans des selles diarrhéiques : Examen direct.
- Recherche des kystes dans des selles moulées : Examen direct, coloration au lugol, technique de concentration par sédimentation.
- Recherche des trophozoïtes dans le produit du tubage duodénal (ou sur le fil d'un stringtest du type Entérotest®) : Examen direct.
- Recherche de coproantigènes spécifiques (GSA 65 par ELISA).
- [Sérologie : Recherche d'anticorps spécifiques dans le sang (IFAT)].
- Recherche d'ADN spécifique par PCR (sur les selles).

Morphologie des trophozoïtes :

Dimensions :	10-20 µm x 6-8 µm x 1-4 µm.
Forme :	Piriforme, en forme de cuillère.
Mouvements :	Comme une chute de feuille, dans une direction.
Noyau :	2 noyaux ovoïdes, en position antérieure.
Caractéristiques :	8 flagelles (4 paires), présence d'une ventouse ventrale.

Morphologie des kystes :

Dimensions :	8-19 µm x 7-10 µm.
Forme :	Ovoïde.
Paroi :	Epaisse.
Noyau :	2 à 4 noyaux, regroupés en position antérieure.
Caractéristiques :	Axostyle en forme de S, corps parabasaux en forme de virgule, cytoplasme souvent rétracté donnant une paroi à double ligne.

Autres signes biologiques associés :

- Souvent asymptomatique.
- Diarrhée aqueuse non sanglantes et non glaireuse.
- [Hypovitaminose suite à une malabsorption des graisses (enfant)].

Confusions possibles :

- Autres flagellés intestinaux [tous non pathogènes] (trophozoïtes).
- Autres protozoaires (kystes).

Remarques :

1. Seuls les kystes sont retrouvés dans des selles moulées. Les trophozoïtes ne se retrouvent que dans des selles diarrhéiques.
2. Les selles diarrhéiques doivent être examinées rapidement après émission (immobilisation rapide des trophozoïtes, qui deviennent alors introuvables).
3. La sensibilité d'un seul examen de selles est de l'ordre de 75 % (expulsion intermittente des kystes). La répétition des examens de selles sur 3 jours consécutifs est donc parfois nécessaire pour mettre en évidence ce parasite.
4. La coloration au lugol tue immédiatement les trophozoïtes, ne les rendant plus identifiables par leurs mouvements Cette coloration rend cependant la structure des kystes mieux visible.
5. La recherche des coproantigènes présente une très bonne sensibilité et une très bonne spécificité.
6. *Giardia intestinalis*, *Giardia duodenalis*, *Lamblia intestinalis* sont des anciens noms pour *Giardia lamblia*.
7. Les kystes sont résistants aux doses de chlore habituellement utilisées dans le traitement de l'eau potable (mais dans les systèmes d'épuration des eaux usées).

Chilomastix mesnili

Super Famille :	Classe :
Retortamonadidea	Retortamonadea

Distribution géographique :

Cosmopolite

Nom commun :

Pathologie :

NON PATHOGENE

Hôtes définitifs :

- Hommes.
- Singes.
- Porcs.

Hôtes intermédiaires :

Sans hôte intermédiaire
Et
sans vecteur

Mode de contamination :

Féco-orale : Ingestion de kystes.

Localisation des trophozoïtes et des kystes :

Commensal de la lumière du côlon et du caecum.

Méthodes diagnostiques :

- Identification des trophozoïtes dans les selles : Examen direct.
- Identification des kystes dans les selles : Examen direct, coloration au lugol, technique de concentration par sédimentation.

Morphologie des trophozoïtes :

Dimensions :	6 – 20 µm x 4 – 7 µm.
Forme :	Piriforme avec une extrémité pointue, torsadé.
Mouvements :	En spirale dans une direction.
Noyau :	1 noyau en position antérieure, à côté des 4 flagelles.
Contenu :	Granuleux.
Caractéristiques :	Piriforme, 5 flagelles, dont 4 dirigés vers l'avant.





Morphologie des kystes :

Dimensions :	7 – 10 µm x 4 – 6 µm.
Forme :	Piriforme.
Paroi :	Epaisse.
Noyaux :	1 noyau central.
Contenu :	Quelques petites lignes courbées (flagelles atrophiés).
Caractéristiques :	

Autres signes biologiques associés :

NON PATHOGENE

Confusions possibles :

- *Giardia lamblia* (trophozoïtes).
- Autres flagellés non pathogènes (trophozoïtes).
- Autres kystes de protozoaires.

Remarques :

1. Comme ce protozoaire n'est pas pathogène, il n'est pas à rechercher, mais doit être différencié des amibes ou des flagellés pathogènes.
2. *Retortamonas (ou Embadomonas) intestinalis* (non pathogène, cosmopolite, retrouvé chez l'homme et le singe) et *Enteromonas hominis* (non pathogène, cosmopolite, retrouvé chez l'homme, le singe mais aussi le porc, les rongeurs et les amphibiens) ont une morphologie identique mais sont légèrement plus petits (4 - 10 µm).

Pentatrichomonas hominis

Super Famille : Trichomonadidae	**Classe :** Parabasalea	

Distribution géographique :

Cosmopolite

Nom commun :

Pathologie :

NON PATHOGENE

Hôtes définitifs :

- Hommes.
- Singes.
- Porcs.
- Chien.
- Chat.
- Rongeurs
- …

Hôtes intermédiaires :

Sans hôte intermédiaire

Et

sans vecteur

Mode de contamination :

Féco-orale : Ingestion des formes **végétatives**.

Localisation des trophozoïtes :

Commensal de la lumière du côlon et du caecum.

Méthodes diagnostiques :

- Identification des trophozoïtes dans les selles : Examen direct.

Morphologie des trophozoïtes :

Dimensions :	8 – 15 µm x 4 – 6 µm.
Forme :	Ovoïde ou rond, avec deux pôles pointus.
Mouvements :	Tourbillonne et tourne dans tous les sens, semble vibrer.
Noyau :	1 noyau antérieur, peu visible.
Caractéristiques :	Membrane ondulante, d'un côté seulement. 4 flagelles antérieurs et 1 postérieur, axostyle traversant tout le cytoplasme et dépassant en une extrémité pointue.

PAS DE FORME KYSTIQUE

Morphologie des kystes :

PAS DE FORME KYSTIQUE

Autres signes biologiques associés :

NON PATHOGENE

Confusions possibles :

- *Giardia lamblia* (trophozoïtes).
- Autres flagellés non pathogènes (trophozoïtes).

Remarques :

1. Comme ce flagellé n'est pas pathogène, il n'est pas à rechercher, mais doit être différencié des flagellés pathogènes que l'on peut retrouver dans les selles.
2. *Pentatrichomonas hominis* est un des flagellés les plus résistants (pas de forme kystique). Il reste donc mobile assez longtemps dans des selles.
3. *Trichomonas hominis* et *Trichomonas intestinalis* sont les anciens noms de ce protozoaire.
4. *Trichomonas tenax* (anciens noms : *Trichomonas elongata* ou *Trichomonas buccalis*) a une morphologie identique. Cet autre flagellé non pathogène pour l'homme se retrouve au niveau de la cavité buccale, sur les gencives, entre les dents ou dans la salive.

Trichomonas vaginalis

Famille : Trichomonadidae

Classe : Parabasalea

Distribution géographique :

Cosmopolite

Nom commun :

Pathologie :

- Trichomoniase (F).
- Trichomonosis (En).
- Trichomoniasis urogenital (Es).

Hôtes définitifs :

- Hommes.

Hôtes intermédiaires :

Sans hôte intermédiaire

et

sans vecteur

Mode de contamination :

Par contact sexuel.

Par contact intime avec des objets humides contaminés (serviettes de toilette, eau du bain, instruments gynécologiques,…)

Localisation des trophozoïtes :

Système urogénital.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des formes végétatives dans les sécrétions vaginales ou dans un exsudat urétral (examen direct [ou après coloration de gram]).
- (Recherche des formes végétatives dans les urines : examen direct du culot de centrifugation).
- [Recherche des antigènes (dans l'urine ou dans une sécrétion vaginale) : ELISA ou IFAT].
- [Culture].
- Recherche d'ADN spécifique par PCR.

Morphologie des trophozoïtes :

Dimensions :	5-19 µm x 3-12 µm.
Forme :	Ovoïde ou ronde, souvent avec un ou deux pôle(s) pointus (axostyle).
Mouvements :	Très mobile, dans toutes les directions.
Noyau :	1 noyau antérieur, souvent peu visible.
Caractéristiques :	4 flagelles antérieurs, membrane ondulante, axostyle.

PAS DE FORME KYSTIQUE

Morphologie des kystes :

PAS DE FORME KYSTIQUE

Autres signes biologiques associés :

- Leucorrhée malodorante « mousseuse », prurit vaginal intense.
- Souvent asymptomatique (homme).

Confusions possibles :

- Autres *Trichomonas* spp.
- Autres flagellés (contamination fécale, contamination de l'eau physiologique,…).

Remarques :

1. Dans les examens directs, la recherche du parasite est basée sur son mouvement. Comme le parasite s'immobilise très rapidement en dehors de son milieu naturel, les échantillons doivent être examinés très rapidement.
2. Comme le parasite se retrouve dans l'urètre, l'examen des premières gouttes d'urines, récoltées après absence de miction durant 4 ou 5 heures, est la méthode recommandée pour rechercher le parasite dans l'urine (hommes).

Trypanosoma brucei gambiense

Famille : Trypanosomatidae

Classe : Mastigophorea

Distribution géographique :

Afrique de l'ouest et centrale (entre 15° latitude nord et 25° latitude sud)
Galerie forestière et forêt équatoriale

Nom commun :

Maladie du sommeil ouest africaine

Pathologie :

- Trypanosomiase chronique ouest africaine (F).
- West African sleeping sickness (En).
- Enfermedad del sueño forma Gambiana (Es).

Hôtes définitifs :

- Homme.
- (animaux domestiques : porcs ?,…).
- (animaux sauvages : buffles, etc.).

Hôtes intermédiaires :

Vecteur :

Mouche tsé-tsé

Glossina
Groupe *palpalis*

Mode de contamination :

- Injection de salive contenant des formes métacycliques lors du repas sanguin d'un vecteur infesté.
- Transfusion sanguine.
- (Transmission congénitale rare).
- (transmission « mécanique » exceptionnelle par un insecte hématophage)

Localisation des parasites :

En Stade I : Lymphe et sang.

En Stade II : (lymphe, sang), compartiment extra-vasculaire : Système nerveux central.

Méthodes diagnostiques :

- Sérologie : CATT (pour dépistage de masse), latex (pour le Nigeria principalement), ELISA, immunofluorescence,…
- Recherche des formes trypomastigotes dans la lymphe (ganglions cervicaux : signe de Winterbottom)
- Recherche des formes trypomastigotes dans le sang :
  - à frais dans une goutte de sang.
  - (en frottis sanguin ou) en goutte épaisse colorée au Giemsa.
  - en Woo à frais.
  - en QBC à frais.
  - en mini colonne mAECT.
- Recherche des formes trypomastigotes dans le liquide céphalo-rachidien : diagnostic et détermination du stade :
  - à frais dans la cellule de numération.
  - simple ou double centrifugation.
- Recherche d'ADN spécifique par PCR.

Morphologie des trypomastigotes :
(dans le sang, après coloration au Giemsa)

Dimensions :	15–25 µm.
Cytoplasme :	Fusiforme, avec un flagelle et une membrane ondulante (bleuté).
Contenu :	Noyau assez gros, souvent central et **petit** kinétoplaste (rougeâtre).
Caractéristiques :	Membrane ondulante partant du kinétoplaste (sub-terminal) et se terminant par le flagelle.

Autres signes biologiques associés :

- Stade I : VS (IgM) fortement augmentée, (anémie leucocytose modérée, thrombocytopénie,)
- Stade II : Idem + perturbation de différents paramètres du LCR.

Confusions possibles :

- *Trypanosoma brucei rhodesiense.*
- Trypanosomiases animales (*Trypanosoma brucei brucei,…)*..
- Bactéries mobiles (*Borrelia* spp. ou contaminant de l'eau) ou exflagellation des *Plasmodium* (pour les examens à frais).
- *Trypanosoma cruzi* (Amérique du sud).
- *Trypanosoma rangeli* (Amérique du sud).

Remarques :

1. Il n'existe aucune différence morphologique entre *T. b. gambiense* et *T.b. rhodesiense*. Les deux espèces sont dimorphes avec des formes longues (en multiplication) et des formes courtes (infestantes pour le vecteur). Le diagnostic d'espèce est donc clinique et géographique.
2. En raison de la toxicité des traitements (entre 5 et 10 % de mortalité suite au traitement pour des patients en stade 2), la sérologie n'est pas suffisante pour faire un diagnostic. Les parasites doivent obligatoirement être mis en évidence. De plus, la confirmation du diagnostic microscopique par une seconde personne est utile.
3. Suite à l'action immunitaire de l'hôte, on observe une succession de vagues de parasitémie correspondant à des variants antigéniques. Il peut donc être utile de répéter les examens parasitologiques et d'utiliser des techniques de concentration.
4. La détection des trypanosomes à frais doit être faite le plus rapidement possible après prélèvement. La probabilité de détecter les trypanosomes diminue drastiquement en fonction du temps (immobilisation des trypanosomes lorsqu'ils ont consommé le glucose). Les trypanosomes sont aussi immobilisés par le soleil.
5. L'anticoagulant de premier choix utilisable pour la recherche des trypanosomes à frais dans le sang est l'héparine.
6. Après coloration au Giemsa, au moins 4 des 5 caractéristiques d'une forme trypomastigote doivent être présentes pour avoir un diagnostic de certitude de trypanosomiase : 1 : taille, 2 : noyau, 3 : kinétoplaste, 4 : cytoplasme, 5 : membrane ondulante et flagelle. Comme *Trypanosoma brucei* se divise par scission binaire, il est possible d'observer des formes en cours de division avec deux noyaux, deux kinétoplastes etc.
7. Le diagnostic du stade de la maladie repose sur l'invasion du système nerveux central. Différents paramètres sont utilisables sur le liquide céphalo-rachidien : nombre de leucocytes, présence de trypanosomes, augmentation des protéines totales, augmentation anormale des IgM, présence de cellules de Mott, présence d'anticorps spécifiques,… Comme il n'y a pas de relation étroite entres ces paramètres, l'OMS recommande d'utiliser au moins les 3 paramètres suivants (le nombre de leucocytes, la présence de trypanosomes et la protéinorachie) pour déterminer le stade de la maladie.
8. *Trypanosoma brucei gambiense* provoque une forme chronique de la maladie, toujours fatale sans traitement. La souche de *Trypanosoma brucei gambiense* de type II, que l'on retrouve en Côte d'Ivoire provoque cependant une maladie à évolution plutôt aigües.

Trypanosoma brucei rhodesiense

Trypanosoma brucei rhodesiense	Famille :	Classe :
	Trypanosomatidae	Mastigophorea

Distribution géographique :

Afrique de l'est
(entre 15° latitude nord et 25° latitude sud)
Savane

Nom commun :

Maladie du sommeil est africaine

Pathologie :

- Trypanosomiase aigue est africaine (F).
- East African sleeping sickness (En).
- Enfermedad del sueño forma Rodesiana (Es).

Hôtes définitifs :

- animaux sauvages.
- (animaux domestiques).
- (Homme).

Hôtes intermédiaires :

Vecteur :

Mouche tsé-tsé

Glossina
Groupe *morsitans*

Mode de contamination :

- Injection de salive contenant des formes métacycliques lors du repas sanguin d'un vecteur infesté.
- (Transfusion sanguine).
- (transmission « mécanique » exceptionnelle par un insecte hématophage)

Localisation des parasites :

En Stade I : Lymphe et sang.

En Stade II : (lymphe, sang), compartiment extra-vasculaire : Système nerveux central.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des formes trypomastigotes dans le sang :
  - à frais dans une goutte de sang.
  - (en frottis sanguin ou) en goutte épaisse colorée au Giemsa.
  - en Woo à frais.
  - en QBC à frais.
  - en mini colonne mAECT.
- Recherche des formes trypomastigotes dans la lymphe (moins utile pour *T.b. rhodesiense*)
- Recherche des formes trypomastigotes dans le liquide céphalo-rachidien : diagnostic et détermination du stade :
  - à frais dans la cellule de numération.
  - simple ou double centrifugation.
- Recherche d'ADN spécifique par PCR.
- [Examens sérologiques (peu utiles car ils sont pris de vitesse par les symptômes cliniques et la recherche des parasites).]



Morphologie des trypomastigotes :
(dans le sang, après coloration au Giemsa)

Dimensions :	15–25 µm.
Cytoplasme :	Fusiforme, avec un flagelle et une membrane ondulante (bleuté).
Contenu :	Noyau assez gros, souvent central et **petit** kinétoplaste (rougeâtre).
Caractéristiques :	Membrane ondulante partant du kinétoplaste (sub-terminal) et se terminant par le flagelle.

Autres signes biologiques associés :

- Stade I : VS (IgM) fortement augmentée, (anémie leucocytose modérée, thrombocytopénie).
- Stade II : Idem + perturbation de différents paramètres du LCR.

Confusions possibles :

- *Trypanosoma brucei gambiense.*
- Trypanosomiases animales (*Trypanosoma brucei brucei,…).*
- Bactéries mobiles (*Borrelia* spp. ou contaminant de l'eau) ou exflagellation des *Plasmodium* (pour les examens à frais).
- *Trypanosoma cruzi* (Amérique du sud).
- *Trypanosoma rangeli* (Amérique du sud).

Remarques :

1. Il n'existe aucune différence morphologique entre *T. b. gambiense* et *T.b. rhodesiense.* Les deux espèces sont **dimorphes** avec des formes longues (en multiplication) et des formes courtes (infestantes pour le vecteur). Le diagnostic d'espèce est donc clinique et géographique.
2. En raison de la toxicité des traitements (entre 5 et 10 % de mortalité suite au traitement pour des patients en stade 2), les parasites doivent obligatoirement être mis en évidence. De plus pour augmenter la spécificité, la confirmation du diagnostic microscopique par un second technicien est utile.
3. Suite à l'action immunitaire de l'hôte, on observe une succession de vagues de parasitémie correspondant à des variants antigéniques. Il peut donc être utile de répéter les examens parasitologiques. Globalement, la parasitémie est plus élevée que celle observée avec *Trypanosoma brucei gambiense.*
4. La détection des trypanosomes à frais doit être faite le plus rapidement possible après prélèvement. La probabilité de détecter les trypanosomes diminue drastiquement en fonction du temps (immobilisation des trypanosomes lorsqu'ils ont consommé le glucose). Les trypanosomes sont aussi immobilisés par le soleil.
5. L'anticoagulant de premier choix utilisable pour la recherche des trypanosomes à frais dans le sang est l'héparine.
6. Après coloration au Giemsa, au moins 4 des 5 caractéristiques d'une forme trypomastigote doivent être présentes pour avoir un diagnostic de certitude de trypanosomiase : 1 : taille, 2 : noyau, 3 : kinétoplaste, 4 : cytoplasme, 5 : membrane ondulante et flagelle. . Comme *Trypanosoma brucei* se divise par scission binaire, il est possible d'observer des formes en cours de division avec deux noyaux, deux kinétoplastes etc.
7. Le diagnostic du stade de la maladie repose sur l'invasion du système nerveux central. Différents paramètres sont utilisables sur le liquide céphalo-rachidien : nombre de leucocytes, présence de trypanosomes, augmentation des protéines totales, augmentation anormale des IgM, présence d'anticorps spécifiques, présence de cellules de Mott,… Comme il n'y a pas de relation étroite entres ces paramètres, l'OMS recommande d'utiliser au moins les 3 paramètres suivants (nombre de leucocytes, la présence de trypanosomes et la protéinorachie) pour déterminer le stade de la maladie.
8. *Trypanosoma brucei rhodesiense* provoque une forme aigue de la maladie, toujours fatale sans traitement. La souche de *Trypanosoma brucei rhodesiense* de type Zambia, que l'on retrouve en Zambie et au Malawi provoque cependant une maladie à évolution plutôt chronique.

Trypanosoma cruzi

Famille : Trypanosomatidae

Classe : Mastigophorea

Distribution géographique :

Amérique latine
Du sud des USA jusqu'au nord de l'argentine

Nom commun :

Trypanosomiase américaine

Pathologie :

- Maladie de Chagas (F).
- Chagas disease (En).
- Enfermedad de Chagas (Es).

Hôtes définitifs :

- Homme.
- animaux domestiques.
- animaux sauvages.

Hôtes intermédiaires :

Vecteur :

Punaise hématophage (kissing bug)

Triatominae

Mode de contamination :

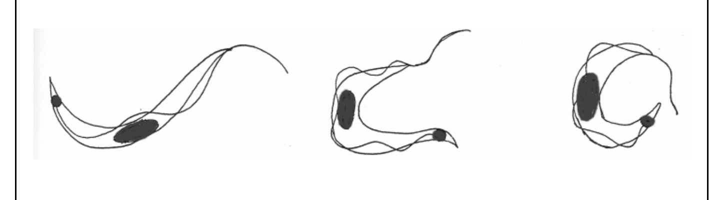
- Pénétration transcutanée active (généralement via la piqûre ou les yeux [syndrome de Romaña]) des formes métacycliques provenant des selles d'un vecteur infesté.
- Transfusion sanguine (transplantation d'organes)
- Transplacentaire (et allaitement).
- (via de la nourriture ou de l'eau contaminées par des vecteurs infestés ou leurs selles ; ou ingestion de viande infestée insuffisamment cuite ?).
- (transmission « mécanique » exceptionnelle par un insecte hématophage).

Localisation des parasites :

Dans le sang : formes trypomastigotes.
Dans les tissus : formes amastigotes.

Méthodes diagnostiques :

- Examens sérologiques : immunofluorescence indirecte, agglutination, fixation du complément, Dot Blot, ELISA,…
- (Recherche des formes amastigotes dans une ponction ganglionnaire ou dans une biopsie).
- Recherche des formes trypomastigotes dans le sang (phase aigue ou congénitale) :
  - à frais dans une goutte de sang.
  - (en frottis sanguin ou) en goutte épaisse colorée au Giemsa.
  - en Woo à frais.
  - en QBC à frais.
  - Méthode de Strout.
- Recherche d'ADN spécifique par PCR.
- [Recherche des parasites après mise en culture du sang (KIVI : Kit for *in vitro* isolation, NNN-medium [Novy-Nicolle-McNeal agar],...).
- [Xénodiagnostic : Recherche du parasite dans les selles d'une nymphe de *Triatoma infestans*, entre 15 et 60 jours après un repas sanguin sur un patient].



Morphologie des formes trypomastigotes :
(dans le sang, après coloration au Giemsa)

Dimensions :	15–25 µm.
Cytoplasme :	Fusiforme, avec un flagelle et une membrane ondulante (bleuté).
Contenu :	Noyau assez gros, souvent central et **gros** kinétoplaste (rougeâtre)
Caractéristiques :	Souvent en forme de C, U [ou S].



Morphologie des formes amastigotes :
(biopsie, après coloration au Giemsa)

Dimensions :	4–6 µm.
Cytoplasme :	Ovoïde ou arrondi (bleuté).
Contenu :	Noyau assez gros et kinétoplaste (rougeâtre).
Caractéristiques :	Intra- ou extra-cellulaires

Autres signes biologiques associés :

- Signe de Romaña (oculaire) ou Chagome (cutané) pour la forme aigue (chez +/- 5 % des patients).
- Perturbation du bilan hépatique pour la forme chronique.

Confusions possibles :

- *Leishmania* spp. (pour les formes amastigotes).
- *Trypanosoma rangeli* (pour les formes trypomastigotes).
- Bactéries mobiles (*Borrelia* spp. ou contaminant de l'eau) ou exflagellation des *Plasmodium* (pour les examens à frais).
- *Trypanosoma brucei rhodesiense* (Afrique).
- *Trypanosoma brucei gambiense* (Afrique).
- Trypanosomiases animales (*Trypanosoma brucei brucei,…)*.

Remarques :

1. *Trypanosoma rangeli*, espèce non pathogène infestant aussi l'homme dans les mêmes régions doit être différenciée de *Trypanosoma cruz*i. La différence de taille du kinétoplaste est un bon critère de différentiation.
2. La détection des trypanosomes à frais doit être faite le plus rapidement possible après prélèvement. La probabilité de détecter les trypanosomes diminue drastiquement en fonction du temps (immobilisation des trypanosomes lorsqu'ils ont consommé le glucose). Les trypanosomes sont aussi immobilisés par le soleil.
3. L'anticoagulant de premier choix utilisable pour la recherche des trypanosomes à frais dans le sang est l'héparine.
4. Les trypomastigotes sont principalement retrouvés dans le sang durant la phase aigue de la maladie (mais avec plus de difficultés que pour la trypanosomiase africaine). En phase chronique, le diagnostic repose principalement sur la sérologie (la culture, le xénodiagnostic ou la PCR).
5. Les formes trypomastigotes de *Trypanosoma cruzi* ne se divisent pas. Seules les formes amastigotes se multiplient par division binaire.
6. Dans des préparations tissulaires, en plus des formes amastigotes, on peut aussi retrouver des formes intermédiaires epimastigotes (entre amastigotes et trypomastigotes).

Trypanosoma rangeli

Famille : Trypanosomatidae

Classe : Mastigophorea

Distribution géographique :

Amérique latine

(Brésil, Vénézuéla, El Salvador, Colombie, Equateur, Panama, Guatemala).

Nom commun :

Pathologie :

NON PATHOGENE

Hôtes définitifs :

- Homme.
- animaux domestiques.
- animaux sauvages.

Hôtes intermédiaires :

Vecteur :

Punaise hématophage (*Rhodnius* spp.)

Triatominae

Mode de contamination :

- Injection de salive contenant des formes métacycliques lors du repas sanguin d'un vecteur infesté.
- Plus rarement pénétration transcutanée active (généralement via la piqûre ou les yeux [syndrome de Romaña]) des formes métacycliques provenant des selles d'un vecteur infesté.
- Transfusion sanguine.
- Transplacentaire.
- (via de la nourriture ou de l'eau contaminées par des vecteurs infestés ou leurs selles ?)
- (transmission « mécanique » exceptionnelle par un insecte hématophage).

Localisation des parasites :

Dans le sang : formes trypomastigotes.

Méthodes diagnostiques :

- Identification des trypanosomes retrouvés dans un examen du sang (coloration de Giemsa).
- Identification d'ADN spécifique par PCR.

Morphologie des formes trypomastigotes :
(dans le sang, après coloration au Giemsa)

Dimensions :	30 – 35 µm.
Cytoplasme :	Fusiforme, avec un flagelle et une membrane ondulante (bleuté).
Contenu :	Noyau assez gros, souvent central et **petit** kinétoplaste (rougeâtre).
Caractéristiques :	Membrane ondulante partant du kinétoplaste (sub-terminal) et se terminant par le flagelle.

Autres signes biologiques associés :

NON PATHOGENE

Confusions possibles :

- *Trypanosoma cruzi.*
- Bactéries mobiles (*Borrelia* spp. ou contaminant de l'eau) ou exflagellation des gamétocytes de *Plasmodium* (pour les examens à frais).
- *Trypanosoma brucei rhodesiense* (Afrique).
- *Trypanosoma brucei gambiense* (Afrique).
- Trypanosomiases animales (*Trypanosoma brucei brucei,…)*.

Remarques :

1. *Trypanosoma rangeli*, espèce non pathogène infestant aussi l'homme dans les mêmes régions doit être différenciée de *Trypanosoma cruzi*. La différence de taille du kinétoplaste est un bon critère de différentiation.
2. Il n'existe que peu de différences morphologiques (à l'exception de la taille) entre *Trypanosoma brucei gambiense*, *Trypanosoma brucei rhodesiense* et *Trypanosoma rangeli*. Les trois espèces sont dimorphes avec des formes longues et des formes courtes. Le diagnostic d'espèce est donc principalement clinique et géographique.
3. A la différence de *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma rangeli* ne se retrouve chez l'homme que sous forme trypomastigote (dans le sang).
4. Il n'existe pas d'immunité de protection croisée entre *Trypanosoma cruzi et Trypanosoma rangeli.*

Leishmania spp.

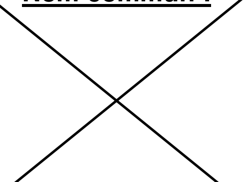
Super Famille : Trypanosomatidae

Classe : Mastigophorea

Distribution géographique :

Cette maladie existe, sous une ou plusieurs de ses formes, dans les pays du bassin méditerranéen et dans les pays tropicaux ou subtropicaux.

Nom commun :



Pathologie :

- Leishmaniose [cutanée, muco-cutanée ou viscérale] (F).
- [Cutaneous, mucocutaneous or visceral] Leishmaniasis (En).
- Leishmaniasis [cutaneas, mucocutaneas o visceral] (Es).

Hôtes définitifs :

- Homme
- Chiens, rongeurs et divers animaux (selon l'espèce de *Leishmania*)

Hôtes intermédiaires :

Vecteur :

Mouches des sables

Phlebotomus spp. **(ancien monde)**

Ou

Lutzomyia spp. et *Psychodogylus* spp. **(nouveau monde)**

Mode de contamination :

- Dépôt sur la peau ou injection de formes métacycliques lors du repas sanguin d'un vecteur infesté.
- Contact direct avec des plaies contenant des *Leishmania*.
- Transfusion sanguine.
- [Ecrasement d'un vecteur contaminé sur la peau (abimée) ou sur les muqueuses].
- [Exceptionnellement par contact avec des selles d'un vecteur contaminé].

Localisation des parasites :

Sous formes amastigotes dans les macrophages, les monocytes ou les histiocytes.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche microscopique, après coloration au Giemsa des formes amastigotes dans les exsudats ou les biopsies de lésions superficielles (formes cutanées ou muco-cutanées), dans des ponctions [spléniques, hépatiques], dans la moelle osseuse ou dans les ganglionnaires (formes viscérales), ou dans un buffy coat (formes viscérales).
- Mise en culture des parasites présents dans des biopsies sur des milieux spécifiques (toutes formes de leishmanioses) Nogushi Wenyon, Tobie Sang Lapin + Locke, etc.
- Intradermo-réaction de Monténégro (à visée principalement épidémiologique pour les formes muco-cutanées et cutanées).
- Sérologie : recherche d'anticorps spécifiques par tests rapides, IFAT, ELISA, DATS,…
- Recherche d'ADN spécifique par PCR (diagnostic des espèces et des sous-espèces).

Morphologie des amastigotes (coloration au Giemsa) :

Dimensions :	1,5 – 3 µm x 2,5 – 6,5 µm
Cytoplasme :	Ovoïde ou arrondi (bleuâtre).
Contenu :	le cytoplasme bleuté (pas toujours visible) contient un gros noyau rond (rougeâtre) et un petit kinétoplaste allongé (rougeâtre, mais plus foncé que le noyau).
Caractéristiques :	Les amastigotes peuvent être tant intra- qu'extra-cellulaires.

Autres signes biologiques associés :

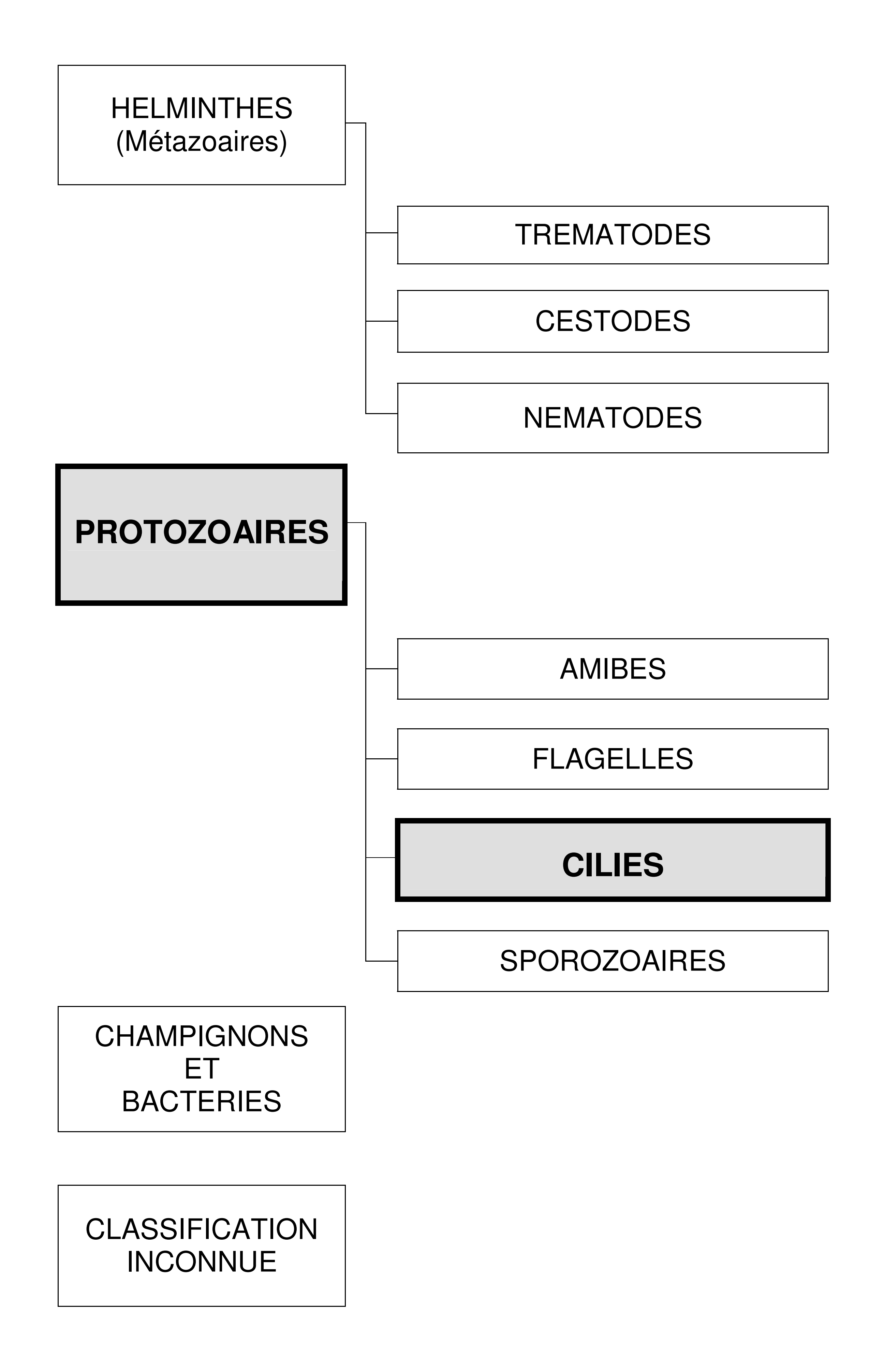
En cas de leishmaniose **viscérale** on observe généralement une pancytopénie importante : abaissement des globules blancs, des plaquettes et des globules rouges (anémie). Perturbation des tests de coagulation et des tests hépatiques, augmentation des globulines sanguines [IgG] (V.S. augmentée, formol gel test positif) et une diminution de l'albumine sérique.

Confusions possibles :

- Bactéries (principalement des diplocoques).
- *Trypanosoma cruzi* (amastigotes).
- *Toxoplasma gondii*.

Remarques :

1. Les différentes espèces de leishmanies sont microscopiquement identiques. La distinction d'espèces, importante cliniquement, peut se faire par anticorps monoclonaux, iso-enzymes ou par PCR. L'origine géographique est aussi indicative.
2. Pour le diagnostic de la leishmaniose viscérale, la sensibilité de la mise en évidence des parasites après coloration au Giemsa dépend du type de prélèvement : de l'ordre de 95 % pour la ponction splénique, 50 à 85 % pour la ponction sternale, 70 % pour la ponction hépatique et 65 % pour la ponction ganglionnaire. Les ponctions spléniques et hépatiques sont souvent évitées en raison de leurs dangers.
3. Les tests sérologiques sont principalement utiles pour les formes viscérales. En cas de leishmaniose viscérale, les anticorps sont même présents avant l'apparition de signes cliniques. La sensibilité est bonne, du moins pour les personnes non immunodéprimées. Pour les autres formes de leishmanioses, la sérologie est peu sensible et le test est souvent négatif. Il existe des réactions croisées avec les autres *Trypanosomatidae*. Le formol gel test, test non spécifique de mise en évidence d'une augmentation importante des gammaglobulines sérique peut être utile.
4. Sans traitement, la leishmaniose viscérale est mortelle.


HELMINTHES
(Métazoaires)
TREMATODES
CESTODES
NEMATODES
PROTOZOAIRES
AMIBES
FLAGELLES
CILIES
SPOROZOAIRES
CHAMPIGNONS
ET
BACTERIES
CLASSIFICATION
INCONNUE

Balantidium coli

Famille : Balantidiae

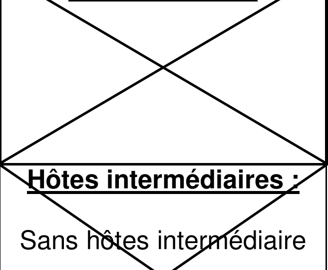
Classe : Listomatea

Distribution géographique :

Cosmopolite.

Parasite rare
(éleveurs de porc)

Nom commun :



Pathologie :

- Balantidiose, balantidiase, dysenterie balantidienne (F)
- Balantidiasis (En)
- Balantidiasis (Es)

Hôtes définitifs :

- Porc,
- Singes, rats, chiens,…
- Homme (zoonose).

Hôtes intermédiaires :

Sans hôtes intermédiaire

ET

Sans vecteurs

Mode de contamination :

- Féco-orale : Ingestion des kystes mûrs.

Localisation des trophozoïtes et des kystes :

- Lumière du colon.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des formes végétatives dans les selles : Examen direct.
- Recherche des kystes dans les selles : Examen direct, technique de concentration par sédimentation.
- (Rectoscopie : recherche des formes végétatives dans une biopsie des lésions).

Morphologie des trophozoïtes :

Dimensions :	50 –200 µm x 40 – 70 µm. (le plus souvent 60 et 70µm).
Forme :	Ovoïde ou sphérique.
Paroi :	Recouverte de très nombreux cils courts animés de battements rapides, cytostome
Contenu :	Deux noyaux (micro - [arrondi] et macro-nucléus [réniforme]) et deux vacuoles contractiles.
Couleur :	Gris brunâtre.
Caractéristiques :	**Très mobile, direction marquée.** Cytostome souvent bien visible.

Morphologie des kystes :

Dimensions :	40 – 65 µm.
Forme :	Sphérique ou ovoïde.
Paroi :	« Double », irrégulière, floue.
Contenu :	Macronucléus réniforme bien visible, micronucléus arrondi parfois visible.
Couleur :	Gris brunâtre.
Caractéristiques :	Un cytostome rudimentaire et les cils accolés à la paroi sont parfois visibles.

Autres signes biologiques associés :

Confusions possibles :

- Autres ciliés non pathogènes: *Paramecium* spp, infusoires, opalines, … (contaminants de l'eau).
- Cellules végétales (kystes).

Remarques :

1. Les kystes sont retrouvés principalement dans des selles moulées tandis que les formes végétatives sont retrouvées dans des selles diarrhéiques. Les formes végétatives sont rapidement détruites, une fois à l'extérieur du colon. Comme le mouvement est un élément important du diagnostic, les échantillons diarrhéiques doivent être observés le plus rapidement possible.
2. Il existe un très grand nombre de ciliés non pathogènes que l'on retrouve dans l'eau ou le sol. Une contamination doit donc toujours être envisagée (eau physiologique utilisée pour la suspension des selles, …)
3. Les formes végétatives sont émises de façon intermittente dans les selles. Des examens répétés sont donc à envisager.
4. Ni les formes végétatives, ni les kystes ne se colorent bien à l'iode ou aux colorants permanents.
5. Des localisations non intestinales (poumon, foie, cœur) ont aussi été rapportées (rarissime, mais *B. coli* aurait un pouvoir invasif tissulaire).

HELMINTHES
(Métazoaires)

- TREMATODES
- CESTODES
- NEMATODES

PROTOZOAIRES

- AMIBES
- FLAGELLES
- CILIES
- **SPOROZOAIRES**

CHAMPIGNONS
ET
BACTERIES

CLASSIFICATION
INCONNUE

Plasmodium falciparum

Famille : Plasmodiidae	**Classe :** Haemosporidea	

Distribution géographique :
Tropiques
Afrique, Amérique, Asie
(Aéroport)

Nom commun :
Paludisme
Malaria

Pathologie :
- Fièvre tierce maligne, fièvre pernicieuse (F).
- Falciparum malaria (En).
- Tertiana maligna, fiebre perniciosa (Es).

Hôtes définitifs :
- Homme.

Hôtes intermédiaires :
Vecteur :
Moustiques femelles
Genre
Anopheles spp.

Mode de contamination :
- Injection de salive contenant des sporozoïtes lors du repas sanguin d'un vecteur infecté.
- Transfusion sanguine.
- Congénitale.

Localisation des parasites :
Intracellulaire dans les cellules hépatiques.
Intracellulaire dans les globules rouges.

Méthodes diagnostiques :
- Recherche des parasites dans le sang :
  - en frottis sanguin (différentiation des espèces, quantification).
  - en goutte épaisse (pré-différentiation des espèces, quantification).
  - en QBC (pré-différentiation des espèces, quantification).
- Sérologie :
  - Recherche des antigènes de *Plasmodium* : pLDH, aldolase, HRP-II (tests rapides).
  - Recherche d'anticorps spécifiques (IFA, ELISA) [usage épidémiologique].
- Recherche d'ADN spécifique par PCR.
- (Détection du pigment malarien ou/et de l'altération des globules rouges parasités : automates hématologiques).

Morphologie trophozoïtes en frottis sanguin :

Morphologie trophozoïtes en goutte épaisse :

Morphologie schizontes en frottis sanguin :

Morphologie schizontes en goutte épaisse :

Morphologie gamétocytes en frottis sanguin :

Morphologie gamétocytes en goutte épaisse :

Caractéristiques principales en frottis sanguin :
- Hématies parasitées de taille normale.
- Pas de schizontes dans le sang périphérique (sauf infestations graves).
- Trophozoïtes fins, en forme de bague, forme accolée, polyparasitisme fréquent (≥ 1 trophozoïte/globule rouge).
- Gamétocytes en forme de banane (si présents).
- Taches de Maurer possible (à pH = 8, et uniquement pour des trophozoïtes âgés).

Caractéristiques principales en goutte épaisse :
- Normalement pas de schizontes dans le sang périphérique (sauf infestations graves).
- Trophozoïtes fins, en forme de bague.
- Gamétocytes en forme de bananes (si présents).
- Image uniforme.

Autres signes biologiques associés :
- Fièvre.
- Thrombocytopénie.
- Anémie (hémolytique).
- Bilirubine (surtout directe) et LDH élevée.
- Haptoglobine basse.
- Hypoglycémie.

Confusions possibles :
- Autres *Plasmodium* spp.
- Plaquettes sanguines.
- Corps de Howell-Jolly.
- *Babesia* spp. et *Theileria* spp.
- *Toxoplasma gondii* (pour les gamétocytes).

Remarques :
1. En goutte épaisse, l'aspect uniforme et monotone de *Plasmodium falciparum* facilite son diagnostic différentiel.
2. Exceptionnellement, en cas d'infestation grave, les parasites ne sont pas retrouvés dans le sang périphérique (séquestration des parasites par cyto-adhérence des globules rouges infestés au niveau de l'endothélium des capillaires).
3. La présence de schizontes de *Plasmodium falciparum* dans le sang circulant et la présence de pigment ingéré dans les leucocytes sont des signes de gravité de l'infestation.
4. Les gamétocytes apparaissent une dizaine de jours après l'invasion initiale. Exceptionnellement, les gamétocytes peuvent être ronds ou en exflagellation.
5. Parasitémie pouvant atteindre plus de 50 % des globules rouges infestés (ou plus de 2.500.000/µl de sang).

Plasmodium vivax

Famille : Plasmodiidae

Classe : Haemosporidea

Distribution géographique :

Isotherme de min 16°C en saison chaude
Afrique, Amérique, Asie, …

Nom commun :

Paludisme

Malaria

Pathologie :

- Fièvre tierce bénigne (F).
- Vivax malaria (En).
- Tertiana benigna (Es).

Hôtes définitifs :

- Homme.

Hôtes intermédiaires :

Vecteur :

Moustiques femelles

Genre *Anopheles* spp.

Mode de contamination :

- Injection de salive contenant des sporozoïtes lors du repas sanguin d'un vecteur infecté.
- Transfusion sanguine.
- Congénitale.

Localisation des parasites :

Intracellulaire dans les cellules hépatiques (hypnozoïtes).

Intracellulaire dans les globules rouges.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des parasites dans le sang :
  - en frottis sanguin (différentiation des espèces, quantification).
  - en goutte épaisse (pré-différentiation des espèces, quantification).
  - en QBC (pré-différentiation des espèces, quantification).
- Sérologie :
  - Recherche des antigènes de *Plasmodium* : pLDH, aldolase (tests rapides).
  - Recherche d'anticorps spécifiques (IFA, ELISA) [usage épidémiologique].
- Recherche d'ADN spécifique par PCR.
- (Détection du pigment malarien ou/et de l'altération des globules rouges parasités : automates hématologiques).

Morphologie trophozoïtes en frottis sanguin :

Morphologie trophozoïtes en goutte épaisse :

Morphologie schizontes en frottis sanguin :

Morphologie schizontes en goutte épaisse :

Morphologie gamétocytes en frottis sanguin :

Morphologie gamétocytes en goutte épaisse :

Caractéristiques principales en frottis sanguin :

- Hématies parasitées agrandies et déformées.
- Tous les stades évolutifs sont possibles.
- Forme amiboïde typique pour les trophozoïtes âgés.
- Schizontes mûrs à 16 noyaux ou plus.
- Granulations de Schüffner fines, mais absentes pour les formes jeunes.

Caractéristiques principales en goutte épaisse :

- Tous les stades évolutifs sont possibles.
- Forme amiboïde typique pour les trophozoïtes âgés.
- Schizontes mûrs à 16 noyaux ou plus.
- Granulations de Schüffner fines, souvent visibles dans les « fantômes » des globules.

Autres signes biologiques associés :

- Fièvre.
- Thrombocytopénie.

Confusions possibles :

- Autres *Plasmodium* spp.
- Plaquettes sanguines.
- Corps de Howell-Jolly.
- *Babesia spp.* Et *Theileria* spp.

Remarques :

1. En goutte épaisse, l'aspect « nuageux » des trophozoïtes de *Plasmodium vivax* facilite son diagnostic différentiel.
2. Il est possible de rencontrer tous les stades en même temps dans le sang périphérique.
3. En raison de la rareté du groupe sanguin Duffy positif (porte d'entrée du parasite dans le globule rouge), ce parasite se rencontre peu en Afrique centrale.
4. Les hypnozoïtes (schizontes hépatiques persistant pendant plusieurs mois ou années après l'infestation) expliquent la possibilité de rechutes tardives.
5. Parasitémie n'excédant pas 4 % des globules rouges infestés (soit 200.000 parasites par µl de sang).

Plasmodium ovale

Famille :	Classe :
Plasmodiidae	Haemosporidea

Distribution géographique :

Afrique tropicale et subtropicale, Partie ouest du Pacifique, Amérique du sud (petits foyers)

Nom commun :

Paludisme

Malaria

Pathologie :

- Fièvre tierce bénigne (F).
- Ovale malaria (En).
- Fiebre tertiana (Es).

Hôtes définitifs :

- Homme.

Hôtes intermédiaires :

Vecteur :

Moustiques femelles

Genre *Anopheles* spp.

Mode de contamination :

- Injection de salive contenant des sporozoïtes lors du repas sanguin d'un vecteur infecté.
- Transfusion sanguine.
- Congénitale.

Localisation des parasites :

Intracellulaire dans les cellules hépatiques (hypnozoïtes).

Intracellulaire dans les globules rouges.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des parasites dans le sang :
  - en frottis sanguin (différentiation des espèces, quantification).
  - en goutte épaisse (pré-différentiation des espèces, quantification).
  - en QBC (pré-différentiation des espèces, quantification).
- Sérologie :
  - Recherche des antigènes de *Plasmodium* : pLDH, aldolase (tests rapides).
  - Recherche d'anticorps spécifiques (IFA, ELISA) [usage épidémiologique].
- Recherche d'ADN spécifique par PCR.
- (Détection du pigment malarien ou/et de l'altération des globules rouges parasités : automates hématologiques).

Morphologie trophozoïtes en frottis sanguin :

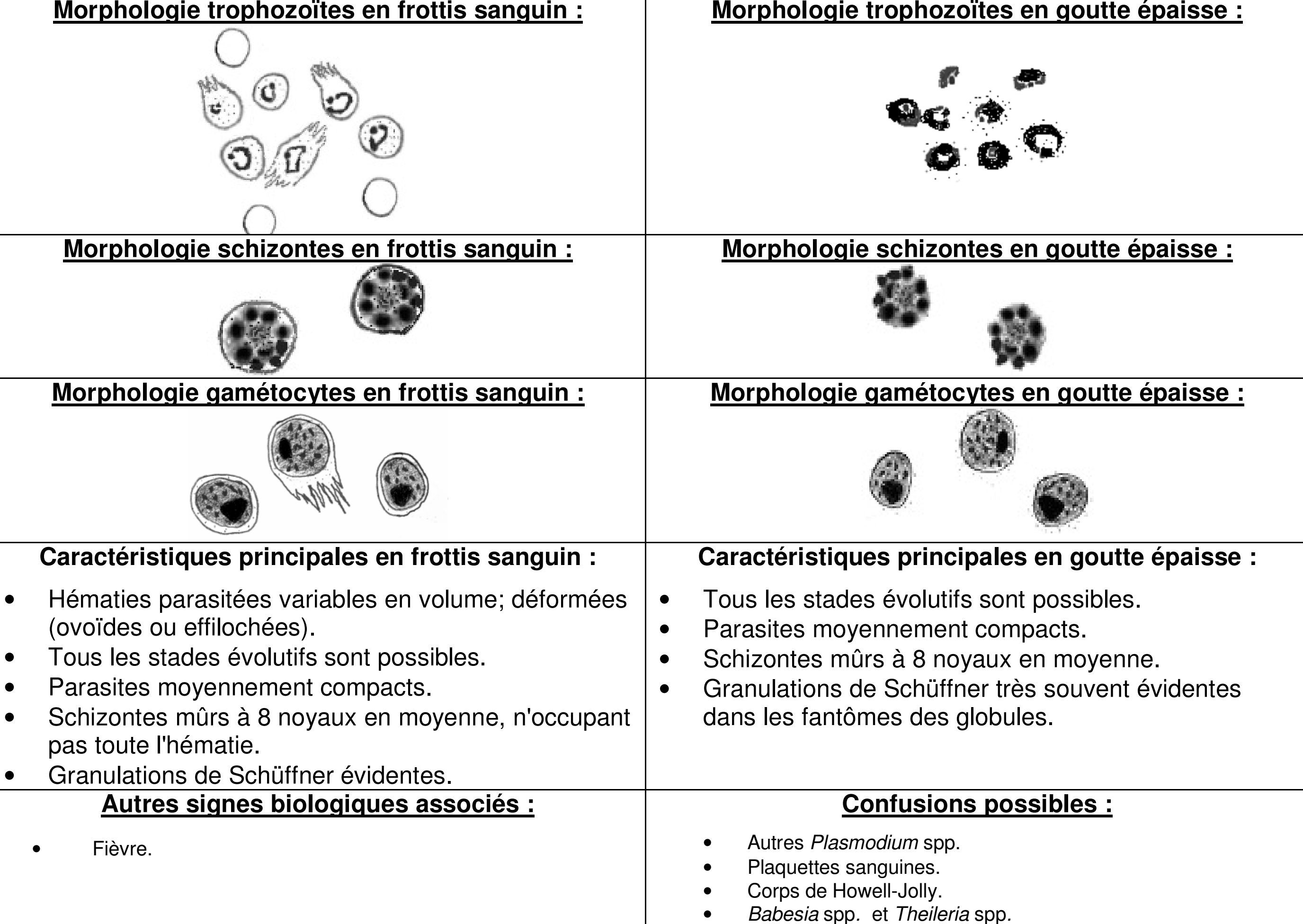
Morphologie trophozoïtes en goutte épaisse :

Morphologie schizontes en frottis sanguin :

Morphologie schizontes en goutte épaisse :

Morphologie gamétocytes en frottis sanguin :

Morphologie gamétocytes en goutte épaisse :



Caractéristiques principales en frottis sanguin :

- Hématies parasitées variables en volume; déformées (ovoïdes ou effilochées).
- Tous les stades évolutifs sont possibles.
- Parasites moyennement compacts.
- Schizontes mûrs à 8 noyaux en moyenne, n'occupant pas toute l'hématie.
- Granulations de Schüffner évidentes.

Caractéristiques principales en goutte épaisse :

- Tous les stades évolutifs sont possibles.
- Parasites moyennement compacts.
- Schizontes mûrs à 8 noyaux en moyenne.
- Granulations de Schüffner très souvent évidentes dans les fantômes des globules.

Autres signes biologiques associés :

- Fièvre.

Confusions possibles :

- Autres *Plasmodium* spp.
- Plaquettes sanguines.
- Corps de Howell-Jolly.
- *Babesia* spp. et *Theileria* spp.

Remarques :

1. Il est possible de rencontrer tous les stades en même temps dans le sang périphérique.
2. Les hypnozoïtes (schizontes hépatiques persistant pendant plusieurs mois ou années après l'infestation) expliquent la possibilité de rechutes tardives.
3. Parasitémie n'excédant jamais 4 % des globules rouges infestés (soit 200.000 parasites par µl de sang).

Plasmodium malariae

Famille : Plasmodiidae

Classe : Haemosporidea

Distribution géographique :

Presque cosmopolite
Fréquent en Afrique et en Asie,
Moins fréquent en Amérique

Nom commun :

Paludisme

Malaria

Pathologie :

- Fièvre quarte bénigne (F).
- Malariae malaria (En).
- La cuartana (Es).

Hôtes définitifs :

- Homme.

Hôtes intermédiaires :

Vecteur :

Moustiques femelles

Genre
Anopheles spp.

Mode de contamination :

- Injection de salive contenant des sporozoïtes lors du repas sanguin d'un vecteur infecté.
- Transfusion sanguine.
- Congénitale.

Localisation des parasites :

Intracellulaire dans les cellules hépatiques.
Intracellulaire dans les globules rouges.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des parasites dans le sang :
  - en frottis sanguin (différentiation des espèces, quantification).
  - en goutte épaisse (pré-différentiation des espèces, quantification).
  - en QBC (pré-différentiation des espèces, quantification).
- Sérologie :
  - Recherche des antigènes de *Plasmodium* : pLDH, aldolase (tests rapides).
  - Recherche d'anticorps spécifiques (IFA, ELISA) [usage épidémiologique].
- Recherche d'ADN spécifique par PCR.
- (Détection du pigment malarien ou/et de l'altération des globules rouges parasités : automates hématologiques).

Morphologie trophozoïtes en frottis sanguin :

Morphologie trophozoïtes en goutte épaisse :

Morphologie schizontes en frottis sanguin :

Morphologie schizontes en goutte épaisse :

Morphologie gamétocytes en frottis sanguin :

Morphologie gamétocytes en goutte épaisse :

Caractéristiques principales en frottis sanguin :

- Hématies parasitées normales ou réduites.
- Tous les stades évolutifs sont possibles.
- Forme en bande typique pour les trophozoïtes (rare).
- Schizontes mûrs à 6 - 12 noyaux, situés à la périphérie du parasite avec pigment rassemblé au centre (forme de marguerite).
- Les parasites sont petits, compacts, foncés
- Pigment précoce.

Caractéristiques principales en goutte épaisse :

- Tous les stades évolutifs sont possibles.
- Schizontes mûrs à 6 - 12 noyaux, situés à la périphérie du parasite avec pigment rassemblé au centre (forme de marguerite).
- Les parasites sont petits, compacts, foncés
- Pigment précoce.

Autres signes biologiques associés :

- Fièvre.

Confusions possibles :

- Autres *Plasmodium* spp.
- Plaquettes sanguines.
- Corps de Howell-Jolly.
- *Babesia* spp. et *Theileria* spp.

Remarques :

1. En goutte épaisse, l'aspect « sale » des parasites de *Plasmodium malariae* facilite son diagnostic différentiel.
2. Il est possible de rencontrer tous les stades en même temps dans le sang périphérique.
3. Parasitémie n'excédant jamais 1 % des globules rouges infestés (soit 50.000 parasites par µl de sang).
4. ***Plasmodium knowlesi***, une espèce de *Plasmodium* infestant le singe et sporadiquement l'homme en Malaisie et à Bornéo, montre une morphologie comparable à *P. malariae*, mais avec une parasitémie beaucoup plus élevée (jusqu'à plus de 10% des globules rouges infectés ou plus de 500.000 parasites par µl de sang. Comme *P. knowlesi* se réplique toutes les 24h, un traitement rapide et efficace est essentiel. Quelques cas ont aussi été décrits en Thaïlande, au Myanmar, à Singapour et au Philippines. **Tout patient en provenance du sud-est asiatique et présentant l'image d'une hyper-parasitémie à "*P. malariae*" doit être traité comme un accès sévère de *P. falciparum*.**

TABLEAU COMPARATIF DES ESPÈCES DE *PLASMODIUM* EN FROTTIS SANGUIN :

Caractéristiques	*Plasmodium falciparum*	*Plasmodium vivax*	*Plasmodium malariae*	*Plasmodium ovale*
Période d'incubation	7 - 21 jours Moyenne 12	8 - 31 jours Moyenne 14	19 - 37 jours Moyenne 28	11 – 16 jours
Hypnozoïtes	Non	Oui	Non	Oui
Rechutes	Non, mais exceptionnellement **recrudescence** possible jusqu'à 1 an après l'infestation	Oui (entre 6 mois et +/- 4ans)	Possible après une longue période (**recrudescence** jusqu'à 52 ans**)**	Possible, mais normalement suppression spontanée
Durée schizogonie érythrocytaire	24-48 heures	48 heures	72 heures	48 heures
Aspect des hématies parasitées	Taille normale (infeste tous les types de globules rouges)	Grands globules pâles (infeste principalement les jeunes globules rouges)	Taille normale ou réduite (infeste principalement les vieux globules rouges)	Agrandie, normale ou réduite; ovoïdes ou effilochées
Granulations dans les globules parasités	Taches de **Maurer** (pH=8): en petit nombre dans les hématies avec des trophozoïtes mûrs	Granulations de **Schüffner** : ponctuation abondante trouvée dans les hématies plus âgées	**Non**	Granulations de **Schüffner** : ponctuations abondantes et évidentes, trouvées dans presque toutes les hématies.
Stades présents	Le plus souvent uniquement des trophozoïtes et/ou des gamétocytes. Exceptionnellement, en cas d'infestation grave des schizontes et de jeunes gamétocytes	Tous les stades possibles	Tous les stades possibles	Tous les stades possibles
Parasitémie	Jusqu'à plus de 2.500.000/µl	Maximum 200.000/µl	Maximum 50.000/µl	Maximum 200.000/µl
Trophozoïtes jeunes :				
Cytoplasme	Forme de bague, fine, souvent situé à la périphérie des hématies	Forme de bague assez large	Anneau compact	Anneau assez compact
Noyau	1 à 2 grains de chromatine	Assez volumineux, parfois 2 grains de chromatine	Normalement 1 grain lourd de chromatine	1 grain lourd
Taille du trophozoïte par rapport au diamètre du globule rouge	1/5 à 1/3 du diamètre	1/4 à 2/3 du diamètre	1/4 à 2/3 du diamètre	1/4 à 2/3 du diamètre
Vacuole	Bien visible	Grande	Pas ou très peu visible	Pas ou peu visible
Pigment	Non	Non	Parfois	Non
Polyparasitisme	Souvent	Parfois	Pratiquement jamais	Pratiquement jamais
Trophozoïtes âgés :				
Cytoplasme	Peu amiboïde, taille moyenne	Amiboïde, fragmenté, occupant toute l'hématie	Compact, parfois amiboïde Forme typique en bande	peu amiboïde, n'occupant pas toute l'hématie
Noyau	1 ou 2 noyaux étirés	1 ou 2 noyaux développés	1 ou 2 noyaux volumineux	1 ou 2 noyaux lourds
Vacuole(s)	1 ou plusieurs, variables en taille	1 ou plusieurs, grandes	Non visible	Petites, visibles ou non
Pigment	Exceptionnellement présent, en 1 grain noir	Petits grains brunâtres, parfois une grosse masse dans le cytoplasme	Oui (gros grains noirâtres)	Très rare
Schizontes jeunes :				
Cytoplasme	Peu développé, irrégulier	Développé, irrégulier	Compact	Compact
Noyaux	2 – 4	2 ou plusieurs, variables en taille	2 – 4	2 - 4
Vacuole(s)	Non	Parfois jusque 4 petites vacuoles	Non	Non
Pigment	Concentré sur le parasite	Ponctuations sombres dispersées sur le parasite	Ponctuations sombres abondantes sur le parasite	Ponctuations sombres dispersées sur le parasite

TABLEAU COMPARATIF DES ESPÈCES DE *PLASMODIUM* EN FROTTIS SANGUIN (SUITE):

Caractéristiques	*Plasmodium falciparum*	*Plasmodium vivax*	*Plasmodium malariae*	*Plasmodium ovale*
Schizontes mûrs				
Cytoplasme	Occupe 2/3 de l'hématie	Occupe presque toute l'hématie	Occupe toute l'hématie	N'occupe pas toute l'hématie
Noyaux	8 - 24, parfois plus dispersés irrégulièrement	12 – 24 Généralement 16	6 -12, généralement 8 situés à la périphérie	4 - 16
Pigment	Concentré sur le parasite	Concentré en 1 ou 2 masses sur le parasite	Concentré en une masse, parfois situé au centre du parasite	Concentré en 1 ou 2 masses sur le parasite
Macrogamétocytes (gamétocyte femelle) :				
Cytoplasme	Gris-bleu, en forme de croissant, exceptionnellement arrondi ou ovalaire; l'hématie parasitée est souvent invisible	Gris-bleu, arrondi ou ovalaire, occupe pratiquement toute l'hématie	Gris-bleu, arrondi, occupe pratiquement toute l'hématie	Gris-bleu, arrondi, n'occupe pas toute l'hématie
Noyau	1 grain de chromatine bien délimité	1 grain de chromatine bien délimité	1 grain de chromatine bien délimité	1 grain de chromatine bien délimité
Pigment	Granulations sombres en forme de grains de riz noirs ou jaune or, situés sur le noyau	Ponctuations brunâtres dispersées sur le parasite	Ponctuations sombres dispersées sur le parasite	Ponctuations sombres dispersées sur le parasite
Microgamétocytes (gamétocytes mâle) :				
Cytoplasme	Rosâtre en forme de croissant, exceptionnellement arrondi ou ovalaire; l'hématie parasitée est souvent invisible	Rosâtre à incolore, arrondi ou ovalaire; occupe pratiquement toute l'hématie	Rosâtre à incolore, arrondi ou ovalaire; occupe pratiquement toute l'hématie	Rosâtre à incolore, arrondi ou ovalaire; n'occupe pas toute l'hématie
Noyau	1 grande tache de chromatine diffuse	1 grande tache de chromatine diffuse	1 grande tache de chromatine diffuse	1 grande tache de chromatine diffuse
Pigment	Granulations sombres, noires ou jaune-or, en forme de grains de riz, dispersées sur le parasite	Granulations brunes noirâtres dispersées sur le parasite	Ponctuations sombres dispersées sur le parasite	Ponctuations sombres dispersées sur le parasite
Caractéristiques les plus importantes :				
	➢ Hématies parasitées normales. ➢ Normalement pas de schizontes dans le sang périphérique, excepté en cas d'infestation grave. ➢ Trophozoïtes fins, en forme de bagues; formes accolées; image uniforme, polyparasitisme. ➢ Gamétocytes en forme de bananes; une dizaine de jours après l'invasion initiale des hématies. ➢ Taches de Maurer possible (pH=8). ➢ Fortes parasitémies possibles pouvant atteindre plus de 50 %.	➢ Hématies parasitées agrandies et déformées. ➢ Tous les stades évolutifs sont possibles. ➢ Forme amiboïde typique pour les trophozoïtes âgés. ➢ Schizontes mûrs à 16 noyaux ou plus. ➢ Granulations de Schüffner fines, mais absentes chez les formes jeunes. ➢ Parasitémie n'excédant pas 4%.	➢ Hématies parasitées de taille normale ou réduite. ➢ Tous les stades évolutifs sont possibles. ➢ Forme en bande typique pour les trophozoïtes (mais rare). ➢ Schizontes mûrs à 6 - 12 noyaux, situés à la périphérie du parasite avec pigment rassemblé au centre. ➢ Les parasites sont petits, compacts, foncés ➢ Pigment précoce. ➢ Parasitémie n'excédant jamais 1 %. (**sauf si infestation par *P. knowlesi***)	➢ Hématies parasitées variables en volume; déformées. ➢ Tous les stades évolutifs sont possibles. ➢ Parasites moyennement compacts. ➢ Schizontes mûrs à 8 noyaux en moyenne, n'occupant pas toute l'hématie. ➢ Granulations de Schüffner évidentes. ➢ Parasitémie n'excédant jamais 4 %.

TABLEAU COMPARATIF DES ESPÈCES DE *PLASMODIUM* EN GOUTTE ÉPAISSE :

Caractéristiques	*Plasmodium falciparum*	*Plasmodium vivax*	*Plasmodium malariae*	*Plasmodium ovale*
Granulations autours des parasites (fantômes des globules rouges)	Non	Granulation de Schüffner : ponctuation abondante trouvée dans "fantômes" des hématies.	Non	Granulation de Schüffner : ponctuations abondantes et évidentes trouvées dans les "fantômes" des hématies.
Stades présents	Le plus souvent uniquement des trophozoïtes et/ou des gamétocytes. Exceptionnellement, en cas d'infestation grave des schizontes et de jeunes gamétocytes	Tous les stades possibles	Tous les stades possibles	Tous les stades possibles
Trophozoïtes :				
Taille	Petits à moyens	Petits à grands	Petits	Petits à moyens
Forme	Forme de bague, couramment en virgule	Anneau ouvert ou forme irrégulière	Annulaire à arrondie, compacte	Annulaire à arrondie, compacte
Cytoplasme	régulier, fin, charnu	Irrégulier et fragmenté	Régulier et dense	Assez régulier et charnu
Noyau	1 à 2 grains de chromatine	Assez volumineux, parfois 2 grains de chromatine	Normalement 1 grain de chromatine	1 grain lourd
Pigment	Exceptionnel, concentré	Rarement, dispersé et fin	Dispersé, abondant,	Dispersé en gros grains
Schizontes :				
Taille	Petit, compact	Grand	Petit, compact	Moyen
Noyaux	8 à 24, parfois plus	12 à 24, généralement 16	6 - 12, généralement 8	4 - 16, généralement 8
Pigment	Concentré en 1 masse	Masse diffuse	Concentré, parfois central	Concentré
Gamétocytes :				
Forme	Banane (exceptionnellement arrondie)	Ronde, grande	Ronde, compacte	Ronde, moyenne
Noyau	1 tache bien définie	1 tache bien définie, souvent périphérique	1 tache bien définie (sauf pour des parasites âgés, pour lesquels le noyau est souvent masqué par le cytoplasme foncé)	1 tache bien définie
Pigment	Granulation sombre en forme de grains de riz, dispersé	Dispersé, fin	Dispersé en gros grains	Dispersé en gros grains
Caractéristiques les plus importantes :				
	➢ Normalement pas de schizontes dans le sang périphérique, excepté en cas d'infestation grave. ➢ Trophozoïtes fins, en forme de bagues; image uniforme. ➢ Gamétocytes en forme de bananes.	➢ Tous les stades évolutifs sont possibles. ➢ Forme amiboïde typique pour les trophozoïtes âgés. ➢ Schizontes mûrs à 16 noyaux ou plus. ➢ Granulations de Schüffner fines, souvent visibles dans les "fantômes" des globules.	➢ Tous les stades évolutifs sont possibles. ➢ Schizontes mûrs à 6 - 12 noyaux, situés à la périphérie du parasite avec pigment rassemblé au centre. ➢ Les parasites sont petits, compacts, foncés ➢ Pigment précoce.	➢ Tous les stades évolutifs sont possibles. ➢ Parasites moyennement compacts. ➢ Schizontes mûrs à 8 noyaux en moyenne. ➢ Granulations de Schüffner très souvent évidentes dans les fantômes des globules.

Babesia spp.

Famille : Babesiidae

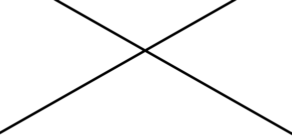
Classe : Piroplasmidea

Distribution géographique :

Cosmopolite **?**

Amérique, Europe, Asie
Afrique **?**

Nom commun :



Pathologie :

- Babésiose, piroplasmose (F).
- Babesiosis, piroplasmosis(En).
- Babesiose, piroplasmose (Es).

Hôtes définitifs :

- Différents animaux domestiques.
- Différents animaux sauvages.
- (Homme).

Hôtes intermédiaires :

Vecteur et réservoir :

Tiques dures / molles

Genre
Ixodes spp.(dures)*,*
Ornithodoros spp.*(molles)*
…

Mode de contamination :

- Injection de salive contenant des sporozoïtes lors du repas sanguin d'un vecteur infesté.
- Transfusion sanguine.
- [Transplacentaire] ?.

Localisation des parasites :

Intracellulaire dans les globules rouges, (les monocytes).

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des parasites dans le sang (goutte épaisse, frottis sanguins).
- Sérologie : Recherche d'anticorps spécifiques de type IgM et/ou IgG (IFAT, ELISA,…).
- Recherche d'ADN spécifique par PCR.
- [Recherche des parasites après inoculation à l'animal].

Morphologie des trophozoïtes :

(en frottis sanguin coloré au Giemsa)

Dimensions :	Variable, de 1 à 5 µm.
Localisation :	De 1 à 4 trophozoïtes par globule rouge (extracellulaire)
Forme :	Rond, ovoïde, piriforme.
Cytoplasme :	Coloré en bleu, sans pigment.
Noyau :	1 petit noyau rouge (puis 2, 3 et 4 noyaux)
Caractéristiques :	Multiplication par bourgeonnement qui restent accolés par leur extrémité pointue, donnant une image en trèfle à 2,3 ou 4 feuilles **(croix de Malte)**. Jamais de pigment.

Autres signes biologiques associés :

- Fièvre.
- Anémie
- Thrombocytopénie.

Confusions possibles :

- Trophozoïtes *de Plasmodium* spp. (principalement *P.falciparum*).
- Plaquettes sanguines.
- Corps de Howell-Jolly.
- *Theileria* spp.

Remarques :

1. Plus de 110 espèces sont décrites en médecine vétérinaire mais seulement quelques unes comme infestant aussi l'homme : *Babesia microti*, *Babesia* WA, *Babesia* MO1 (Amérique), *Babesia divergens*, *Babesia bovis* (Europe), …
2. Pathologie rare. La majorité des infestations humaines devraient être asymptomatiques, comme le laisse supposer les résultats de surveillance sérologique en zone endémique. L'immunodépression, la splénectomie et aussi le grand âge, confèrent à l'homme une sensibilité particulière. *Babesia divergens* (Europe) serait cependant plus dangereuse mais heureusement aussi plus rare.
3. Le diagnostic différentiel par rapport à des trophozoïtes de *Plasmodium falciparum* est difficile, ce qui pourrait être à l'origine d'attribution erronée de malaria à ces infestations (surtout en zone où la malaria est endémique). Ceci pourrait expliquer le peu de cas diagnostiqués en Afrique.
4. La coinfection avec *Borrelia burgdorferi* (maladie de Lyme, mode de contamination identique, vecteurs coinfestés fréquents et transmission expérimentale possible des deux agents pathogènes durant un même repas sanguin) est bien décrite en Amérique (jusqu'à 89 % des cas babésioses).
5. Une autre famille de bactérie (*Ehrlichia* spp.) transmise aussi par des tiques au Etats-Unis et au Japon, provoque l'ehrlichiose granulocytique humaine (EGH). Il s'agit d'une pathologie rare avec un tableau biologique assez similaire. Son diagnostic est sérologique.
6. Il existe une transmission transovarienne des parasites chez les tiques. L'hôte vertébré n'est donc pas indispensable à la survie du parasite. La terminologie d' « hôte définitif » pour le vertébré est donc impropre.
7. Une autre famille de parasites assez similaires *Theileria* spp. infeste les animaux. Il n'aurait cependant pas été décrit dans des infestations humaines.

Toxoplasma gondii

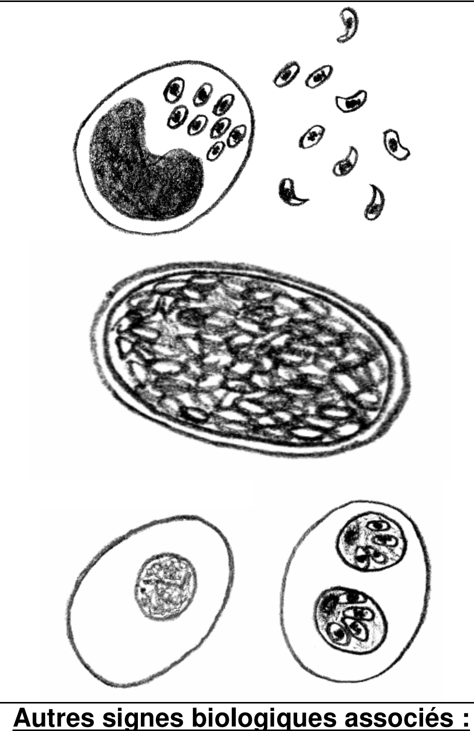
Famille :	Classe :
Sarcocystidae	Coccidea

Distribution géographique :	Nom commun :	Pathologie :
Cosmopolite		• Toxoplasmose (F). • Toxoplasmosis (En). • Toxoplasmosis (Es).

Hôtes définitifs :	Hôtes intermédiaires :	Mode de contamination :
• Félidés (chats,…)	• Mammifères • Oiseaux • Homme	• Transplacentaire (+ transfusion, greffe d'organe). • Ingestion d'oocyste sporulés [via les chats]. • Ingestion de viande contaminée (bradyzoïtes ou plus rarement tachyzoïtes) [via les moutons]. • Ingestion de bradyzoïtes après manipulation de viande crue. **Localisation des tachyzoïtes :** Variable (cerveau, yeux, cœur, généralisée,…).

Méthodes diagnostiques :

- **Indirect : sérologie (Ig M, Ig G, Ig A, [Ig E]). Presque uniquement dans le cadre d'infestations congénitales.**
- Recherche des tachyzoïtes (placenta, liquide amniotique, L.C.R., moelle osseuse, ganglions, empreinte d'organes, …) après coloration au Giemsa. Dans le cadre de patients immunodéprimés, on peut aussi retrouver des tachyzoïtes dans les monocytes du sang périphérique.
- Recherche de bradyzoïtes ou tachyzoïtes dans les coupes histologiques (P.A.S.)
- [Recherche des parasites après culture cellulaire ou inoculation à l'animal].
- Recherche d'ADN spécifique par PCR.
- Radiographie, scanner, échographie, fond de l'œil,…



Morphologie des tachyzoïtes (Giemsa) :

(homme)

5 -12 µm x 2 – 4 µm, intracellulaires (macrophages) [ovoïde] ou extracellulaires [en forme de goutte d'eau un peu arquée], cytoplasme bleuté avec un noyau central granuleux rougeâtre.

Morphologie des kystes :

(homme – animal)

(principalement dans le cerveau et dans les muscles) Jusqu'à 200 µm, sphériques ou ovoïdes, entourés d'une membrane épaisse, contenant de 50 à quelques milliers de **bradyzoïtes**.

Morphologie des oocystes :

(excréments de chats)

10 – 15 µm, ovoïdes. Les oocystes non sporulés (non infectants) contiennent une masse granuleuse à l'intérieur, alors que les oocystes sporulés contiennent 2 sporocystes composés chacun de 4 sporozoïtes.

Autres signes biologiques associés :	Confusions possibles :
• Variables, monocytose fréquente. • [Immunodépression].	• *Leishmania* spp., *Pneumocystis* spp., *Sarcocystis* spp.. • Gamétocytes de *Plasmodium falciparum.*

Remarques :

1. La recherche parasitologique est assez difficile en raison de la rareté des tachyzoïtes dans les prélèvements.
2. La sérologie, principalement utilisée dans le cadre des infestations congénitales peut aussi être utile dans le cadre de patients immunodéprimés. Son interprétation est néanmoins difficile.
3. Les oocystes non sporulés excrétés nécessitent une maturation de 1 à 5 jours (en fonction des conditions extérieures) avant de devenir infestants. Ces oocystes sont très résistants.

Sarcocystis spp.

Famille : Sarcocystidae

Classe : Coccidea

Distribution géographique :

Cosmopolite

Nom commun :

Pathologie :

- Sarcocystose (intestinale ou musculaire), Sarcosporidiose. (F).
- (Intestinal or muscular) Sarcocystosis (En).
- Sarcocystosis intestinal o muscular (Es).

Hôtes définitifs :

- Carnivores.
- Omnivores.
- (Homme).

Hôtes intermédiaires :

Herbivores.
Porcs.

(Homme)

Mode de contamination :

- En ingérant de la viande mal cuite, de porc ou de bœuf (hôte intermédiaire) contenant des kystes **(forme intestinale).**
- Féco-oral : Ingestion de sporocystes provenant des excréments d'un hôte définitif infesté. **(forme musculaire).**

Localisation des parasites :

Forme intestinale : Schizogonie dans les cellules épithéliales du duodénum et du jéjunum, élimination des oocystes dans les selles.
Forme musculaire : Courte double schizogonie dans l'endothélium vasculaire, enkystement dans les muscles (sarcocystes).

Méthodes diagnostiques :

Forme intestinale :

- Recherche des oocystes sporulés dans les selles : examen direct, technique de concentration par sédimentation ou par flottation.
- Recherche d'ADN spécifique par PCR.

[Forme musculaire :

- Identification des kystes (sarcocystes) dans des biopsies musculaires]

Morphologie des oocystes : (dans les selles)

Dimensions :	11 – 17 µm x 10 – 16 µm.
Forme :	Ovoïde ou variable.
Paroi :	Très fine et très fragile, souvent cassée entraînant la libération des 2 sporocystes.
Contenu :	2 sporocystes sporulés ovoïdes, contenant 4 sporozoïtes en forme de bananes.
Caractéristiques :	Sporocystes toujours sporulés, contenant la plupart du temps une masse granuleuse réfringente.

Autres signes biologiques associés :

- Diarrhée aqueuse non sanglante (forme intestinale).
- Eosinophilie fréquente.
- Présence fréquente de cristaux de Charcot-Leyden dans les selles.

Confusions possibles :

- Kystes de *Giardia lamblia.*
- Certaines coccidies animales en transit.

Remarques :

1. Les deux formes d'infestation, tant intestinales que musculaires, seraient la plupart du temps asymptomatiques. Ces parasites seraient plus des opportunistes (immunodéprimés).
2. Dans la forme intestinale, les oocystes apparaissent dans les selles 2 semaines après l'infestation. Le nombre de parasites présents dans les selles est souvent très bas, nécessitant des techniques d'enrichissement.
3. Lorsque l'homme est l'hôte définitif (*Sarcocystis bovi-hominis*, avec un herbivore comme hôte intermédiaire ; ou *Sarcocystis sui-hominis*, avec un porc comme hôte intermédiaire), on obtient une sarcocystose intestinale. Lorsque l'homme est l'hôte intermédiaire (différentes autres espèces de *Sarcocystis*, différents hôtes définitifs), on obtient une sarcocystose musculaire.
4. Les oocystes présents dans les selles humaines ne seraient pas infectieux pour l'homme.
5. Les oocystes de *sarcocystis* spp. sont majoritairement Alcoolo-Acido résistants. Après coloration de Ziehl-Neelsen, la majorité des oocystes seront colorés en rose pâle à pourpre intense sur un fond bleu. Certains oocystes resteront cependant incolores.
6. Après coloration rapide de Heine, les oocystes apparaissent incolores et très réfringents sur un fond rougeâtre.
7. Les oocystes peuvent aussi être identifiés sur base de leur auto-fluorescence : Ils fluorescent en violet à 405 nm, en vert à 436 nm ou en bleu à 436 nm). Cette technique n'est utilisable que sur des préparations fraiches (examen direct ou après SAF fixation ou après concentration par sédimentation).
8. Durant la courte partie sanguine du cycle de ce parasite chez l'homme (pour la forme musculaire uniquement), les rares sporozoïtes présents dans le sang peuvent être confondus avec des gamétocytes de *P. falciparum* ou avec des toxoplasmes.
9. *Isospora hominis* est l'ancien nom pour le parasite de la forme intestinale humaine de *Sarcocystis* spp.

Isospora belli

Famille :	Classe :
Eimeriidae	Coccidea

Distribution géographique :	Nom commun :	Pathologie :
Cosmopolite Plus commun en régions tropicales ou subtropicales		• Isosporose (F). • Isosporiasis (En). • Isosporiasis (Es).

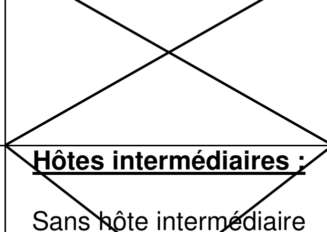
Hôtes définitifs :	Hôtes intermédiaires :	Mode de contamination :
• Homme.	Sans hôte intermédiaire Et sans vecteur.	• Féco-oral : en ingérant des oocystes sporulés.

Localisation des parasites :

Schizogonie intracellulaire dans les cellules épithéliales du duodénum et du jéjunum.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des oocystes dans les selles : Examen direct, technique de **concentration par** sédimentation ou **par flottation**.
- Recherche des parasites dans un produit d'aspiration duodénal (ou dans des biopsies duodénales).
- Recherche d'ADN spécifique par PCR.



Morphologie des oocystes :

(dans les selles)

Dimensions :	25 - 33 µm x 12 – 16 µm.
Forme :	Ellipsoïde, en double obus.
Paroi :	Très mince et très transparente.
Contenu :	1 puis 2 sporoblastes non sporulés (masse granuleuse).
Caractéristiques :	Paroi très transparente

Autres signes biologiques associés :

- Diarrhée aqueuse non sanglante.
- Eosinophilie fréquente.
- Présence fréquente d'acides gras dans les selles.
- Présence fréquente de cristaux de Charcot Leyden dans les selles.

Confusions possibles :

- Coccidies en transit : *Eimeria stiediae* ou *E. perforans* (viande de lapin), *E. sardinae, E. clupearum* (sardines, hareng, maquereaux), ...

Remarques :

1. Parasite exclusivement humain, normalement peu pathogène, il devient plus agressif en cas d'immunodépression (parasite opportuniste).
2. Malgré sa grande taille, ce parasite n'est que peu visible sous un grossissement de 100 x (paroi fine et transparente). Sa recherche doit donc être faite avec un grossissement 400 x. Les examens répétés sont parfois utiles pour les mettre en évidence.
3. Les oocystes ne sont jamais sporulés lors de l'émission. Ils nécessitent une maturation dans le milieu extérieur avant de devenir infestants. Cette maturation dure de quelques jours à quelques semaines, en fonction de la température et de l'humidité. A la fin de la maturation, un oocyste contiendra deux sporocystes formés chacun de 4 sporozoïtes.
4. Les oocystes sont très résistants (ils restent viables durant plusieurs mois dans des milieux liquides). Ils résistent à certains désinfectants (crésyl, iode, hypochlorites, soude caustique et produits à base d'aldéhydes). Ils sont cependant rapidement tués par l'ammoniaque ou le formol).
5. Les oocystes d'*Isospora belli* sont majoritairement Alcoolo-Acido résistants. Après coloration de Ziehl-Neelsen, la majorité des oocystes seront colorés en rose pâle à pourpre intense sur un fond bleu. Certains oocystes resteront incolores. La forme typique en double obus sera toujours visible.
6. Après coloration rapide de Heine, les oocystes apparaissent incolores et très réfringents sur un fond rougeâtre.
7. Les oocystes peuvent aussi être identifiés sur base de leur auto-fluorescence : Ils fluorescent en violet à 405 nm, en vert à 436 nm ou en bleu à 436 nm). Cette technique n'est utilisable que sur des préparations fraiches (examen direct ou après SAF fixation ou après concentration par sédimentation).

Cyclospora cayetanensis

Famille : Eimeriidae

Classe : Coccidea

Distribution géographique :

Cosmopolite

Nom commun :

Pathologie :

- Cyclosporose (F).
- Cyclosporosis (En).
- Cyclosporosis (Es).

Hôtes définitifs :

- Homme.
- Autres animaux ?

Hôtes intermédiaires :

Sans hôte intermédiaire

Et

Sans vecteur.

Mode de contamination :

- Féco-oral : en ingérant des oocystes sporulés.

Localisation des parasites :

Schizogonie intracellulaire dans les cellules épithéliales du duodénum et du jéjunum.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des oocystes dans les selles : Examen direct, technique de concentration par sédimentation.
- Recherche des oocystes dans un produit d'aspiration duodénal (ou dans des biopsies duodénales).
- Recherche d'ADN spécifique par PCR.

Morphologie des oocystes :

(Dans les selles)

Dimensions :	8 – 10 µm.
Forme :	Rond.
Paroi :	Mince et transparente mais bien visible.
Contenu :	Nombreux corps sphériques réfringents (« morula »).
Caractéristiques :	Transparent, aspect en lentille de verre.

Autres signes biologiques associés :

- Diarrhée aqueuse non sanglante.

Confusions possibles :

- *Cryptosporidium* spp. (après coloration de Ziehl-Neelsen).
- Coccidies animales en transit.

Remarques :

1. Parasite normalement peu pathogène, il devient plus agressif en cas d'immunodépression (parasite opportuniste).
2. Les oocystes retrouvés dans les selles sont généralement non sporulés. La sporulation qui se déroule dans le milieu extérieur, nécessite de quelques jours à quelques semaines (en fonction de la température et de l'humidité). Un oocyste sporulé contient deux sporocystes contenant chacun deux sporozoïtes.
3. Après coloration rapide de Heine, les oocystes apparaissent incolores et très réfringents sur un fond rougeâtre.
4. Après coloration au Ziehl-Neelsen modifiée, ils apparaissent colorés en rose à violet sur un fond bleu. Tous les oocystes de *C. cayetanensis* ne sont cependant pas Alcoolo-Acido Résistants.
5. Après coloration rapide de Heine, les oocystes apparaissent incolores et très réfringents sur un fond rougeâtre.
6. Les oocystes peuvent aussi être identifiés sur base de leur auto-fluorescence : Ils fluorescent en violet à 405 nm, en vert à 436 nm ou en bleu à 436 nm). Cette technique n'est utilisable que sur des préparations fraiches (examen direct ou après SAF fixation ou après concentration par sédimentation).
7. Les oocystes de *C. cayetanensis* ne prennent pas le lugol.

Cryptosporidium spp.

Famille :	Cryptosporiidae
Classe :	Coccidea

Distribution géographique :

Cosmopolite.

Nom commun :

Pathologie :

- Cryptosporidiose (F).
- Cryptosporidiosis (En).
- Cryptosporidiosis (Es).

Hôtes définitifs :

- Homme.
- De très nombreux animaux.

Hôtes intermédiaires :

Sans hôte intermédiaire

et

sans vecteur.

Mode de contamination :

- Féco-oral : en ingérant des oocystes sporulés.
- (Aérienne ?)

Localisation des parasites :

Schizogonie intracellulaire dans les cellules épithéliales de l'intestin grêle.

[plus rarement dans l'épithélium pulmonaire, ou les cellules hépatiques ou pancréatiques].

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des oocystes dans les selles : coloration rapide de Heine, de Ziehl-Neelsen modifiée, … soit directement sur les selles, soit après concentration par sédimentation.
- [Recherche des oocystes dans les aspirations bronchiques, lavages broncho-alvéolaire ou biopsies.]
- Recherche de coproantigènes : EIA, ELISA,…
- [Recherche d'anticorps spécifiques (IFAT, …)]
- Recherche d'ADN spécifique par PCR.

Morphologie des oocystes :

(Après coloration spécifique)

Dimensions :	3 - 6 µm.
Forme :	Rond ou légèrement ovoïdes.
Contenu :	Quelques petites structures en forme de lunes (sporozoïtes)
Caractéristiques :	Les oocystes, plus particulière-ment leurs périphéries, sont Alcoolo-Acido résistants (rouge à rose après Ziehl-Neelsen).

Autres signes biologiques associés :

- Diarrhée aqueuse non sanglante.
- Présence fréquente de cristaux de Charcot-Leyden dans les selles.

Confusions possibles :

- Levures (roses très pâle après Ziehl-Neelsen).
- *Cyclospora cayetanensis.*

Remarques :

1. La cryptosporidiose est principalement une infestation opportuniste : Si chez un patient immunocompétent, l'épisode dépasse rarement 10 jours et régresse spontanément, chez un sujet immunodéprimé, l'évolution n'a aucune tendance à la rémission.
2. Les auto-infestations sont possibles (oocystes directement infectants).
3. Les selles des malades étant très infectantes, il est important de prendre des précautions drastiques dans les services où séjournent des personnes immunodéprimées.
4. Les oocystes ne sont identifiables ni dans un examen direct ni après coloration au lugol (les oocystes ne prennent pas le lugol). Ils sont indistinguables des levures et d'autres éléments ovoïdes. Une coloration spécifique est donc indispensable.
5. Après coloration au Ziehl-Neelsen modifié, les oocystes apparaissent rose à violet sur un fond bleu. Après coloration rapide de Heine, ils apparaissent incolores et très réfringents sur un fond rougeâtre.
6. Les oocystes peuvent aussi être identifiés sur base de leur auto-fluorescence : Ils fluorescent en violet à 405 nm, en vert à 436 nm ou en bleu à 436 nm). Cette technique n'est utilisable que sur des préparations fraiches (examen direct ou après SAF fixation ou après concentration par sédimentation).
7. *Cryptosporidium parvum* et *Cryptosporidium hominis* (regroupés en *C. parvum* genotype 1) seraient les principaux agents de l'infestation humaine. Des infestations humaines par *C. felis* (félins), *C. meleagridis* (oiseaux), *C. canis* (canidés), *C. nasorum* (poissons), *C. muris* (rongeurs), etc. ont aussi été rapportées. La spécificité d'hôte ne serait pas rigoureuse.
8. Les Cryptosporidium sont retrouvés dans l'eau potable et dans les eaux de baignade (piscines, jacuzzis, lacs, rivières, sources, etc.) contaminées par des excréments. Comme les oocystes sont très résistants aux désinfectants à base de chlore, une filtration est nécessaire.
9. L'absence actuelle de traitement efficace, limite l'intérêt de la recherche des *Cryptosporidium* spp.

HELMINTHES
(Métazoaires)

- TREMATODES
- CESTODES
- NEMATODES

PROTOZOAIRES

- AMIBES
- FLAGELLES
- CILIES
- SPOROZOAIRES

CHAMPIGNONS ET BACTERIES

CLASSIFICATION INCONNUE

Pneumocystis jiroveci (Pneumocystis carinii)

Famille : Pneumocystidaceae	**CHAMPIGNONS**	**Classe :** Archiascomycetes

Distribution géographique :	**Nom commun :**	**Pathologie :**
Cosmopolite		• Pneumonie à Pneumocystis carinii (F) • Pneumocystis carinii pneumonia (En) • Neumonia Pneumocystis Carinii (Es)

Hôtes définitifs :	**Hôtes intermédiaires :**	**Mode de contamination :**
• Homme.	Hôtes intermédiaires ? vecteur ?	Aérienne ? Jeunes enfants avec sérologie souvent positive ➔ réservoir ? ➔ infection (infestation) latente ? **Localisation du parasite :** • Pulmonaire • (Possibilité de dissémination extra pulmonaire).

Méthodes diagnostiques :

- Radiographie pulmonaire.
- Recherche des parasites dans une expectoration induite, un lavage alvéolaire ou une empreinte de biopsie pulmonaire (Bleu de toluidine O, Giemsa, ou RAL 555).
- Recherche d'ADN spécifique par PCR sur biopsie pulmonaire ou L.B.A.

Morphologie des différentes formes

« **Trophozoïtes** » :	**Soit** petite forme ovale, Uni nucléé, de 2 à 4 µm (jeunes). **Soit** amiboïde, Uni nucléé, de 4 à 10 µm (âgés).
« **Pré kystes** » :	2 à 6 noyaux, paroi épaissie, de 3 à 6 µm.
« **Kystes** » :	contenant 8 parasites, paroi épaisse, de 4 à 8µm.
« **Kystes vides** » :	de 4 à 8 µm, Paroi épaisse.

Autres signes biologiques associés :	**Confusions possibles :**
• Immunodépression.	• *Histoplasma capsulatum*

Remarques :

1. La paroi des kystes et des pré-kystes est colorée en bleu au bleu de toluidine O.
2. Les trophozoïtes et les corps intra kystiques sont colorés en bleu avec un noyau rouge au Giemsa. La plupart du temps, seul le noyau est coloré. La paroi n'est jamais colorée.
3. *Pneumocystis carinii* est l'ancien nom pour *Pneumocystis jirovec*i.

Borrelia spp.

[toutes les *Borrelia* spp. sauf *Borrelia burgdorferi*]

Famille : Spirochataceae

BACTERIES

Classe : Spirochaetes

Distribution géographique :

Cosmopolite et épidémique [4].

Ou

Localisation régionale et endémique [5]

Nom commun :

Pathologie :

- Fièvres récurrentes à poux ou à tiques, Borréliose (F).
- Relapsing fever, louse or tick borne Borreliosis(En).
- Borreliosis, fiebre recurrente por piojos o por garrapatas (Es).

Hôtes définitifs :

- Homme [4].
- Animaux et Hommes [5]

Hôtes intermédiaires :

Vecteurs :

Poux [4] :
Pediculus humanus corporis

Vecteurs et Réservoir :

Tiques molles [5] :
Ornithodorus spp,

Mode de contamination :

- Pénétration transcutanée (via une excoriation ou les conjonctives) des *Borrelia* après écrasement d'un pou infesté[4].
- Injection de salive ou de liquide coxal contenant des *Borrelia* lors du repas sanguin d'un vecteur infesté.[5]
- (Transfusion sanguine, rare).
- (Congénitale, exceptionnelle).

Localisation de la bactérie :

- Sang, (L.C.R.).

Méthodes diagnostiques :

- Recherche de la bactérie dans le sang : examen direct, Woo, goutte épaisse colorée au Giemsa.
- (recherche des bactéries dans le LCR ou l'urine : examen direct, coloration au Giemsa).
- (tests sérologique, peu étudiés, peu disponibles, réaction croisées avec *Treponema* spp.)

Morphologie de la bactérie

(après coloration au Giemsa)

Fine et longue bactérie 10 – 20 µm x 0,5 µm

Hélicoïdale,

Colorée en Bleu (au Giemsa)

Très mobile (examen à frais)

Autres signes biologiques associés :

- Thrombocytopénie et altération des paramètres de coagulation fréquente.
- Anémie fréquente.
- Leucocytose (neutrophiles) importante (30 % des cas), ou leucopénie.

Confusions possibles :

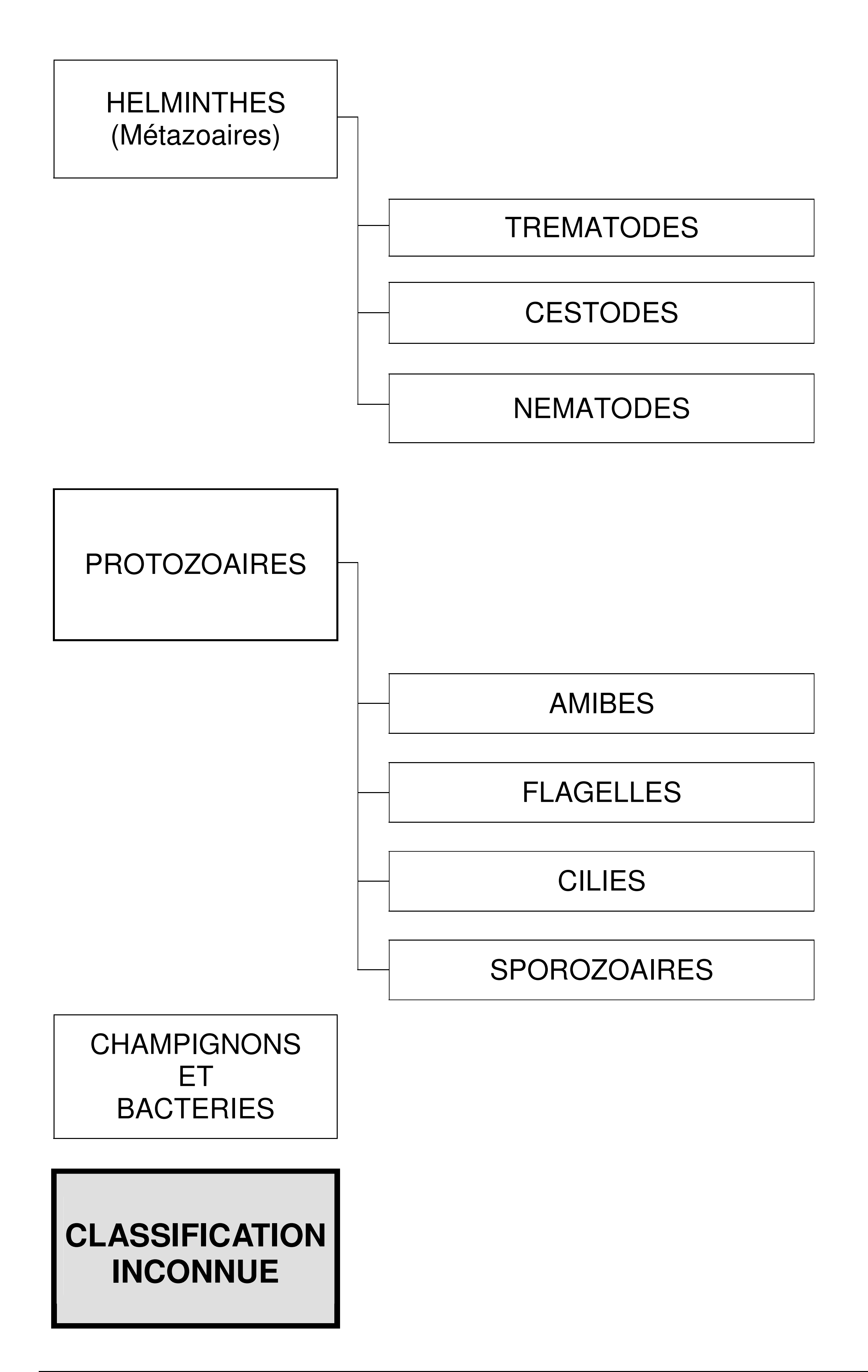
- Tréponèmes.
- Leptospires.
- Exflagellation des gamétocytes de P*lasmodium* spp.

Remarques :

1. Cette bactérie se retrouve dans des notes de parasitologie en raison de l'utilisation de techniques de parasitologie pour la mettre en évidence (examen à frais du sang, Woo, goutte épaisse, etc.), mais aussi en raison de son diagnostic différentiel de la malaria.
2. Les *Borrelia* sont des spirochètes hélicoïdaux très mobiles à Gram négatif qui peuvent aussi être colorés au Giemsa. Toutes les espèces de *Borrelia* ont la même morphologie et sont indistinguables au microscope. La culture n'est pas une méthode de diagnostic de routine.
3. Le prélèvement du sang devrait coïncider avec le pic fébrile (bactériémie maximale, sensibilité optimale).
4. Les fièvres récurrentes à poux sont causées par *Borrelia recurrentis* (fréquentes sur les haut plateaux africains : Ethiopie, Rwanda, Burundi ; moins fréquente en Afrique du nord-ouest et de l'est, au Pérou, en Bolivie et en Indes.
5. Les fièvres récurrentes régionales à tiques sont causées par : *B. duttoni* (Madagascar, Afrique centrale et La réunion) ; *B. hispanica* (Afrique centrale et du nord, Espagne, Grèce) ; *B. persica* (Egypte, Iran, Afghanistan), *B. turicatae, B. parkeri,* et *B.hermsii* (USA) ; *B. venezuelensis* (Amérique du sud), ... Dans ces cas, les bactéries sont aussi transmisses d'une génération de tiques à l'autre (transmission transovarienne).
6. Les tests sérologiques non standardisés sont peu étudiés et peu disponibles pour les fièvres récurrentes.
7. *Borrelia burgdorferi*, agent causal de la maladie de Lyme est aussi transmis par des tiques dures, sans cependant provoquer de fièvre récurrente. La coloration au Giemsa n'est d'aucune utilité dans ce cadre (bactériémie trop basse pour être détectée). Des tests sérologiques sont cependant disponibles.

---

[4] Pour *Borrelia recurrentis*, agent de la fièvre récurrente à poux.
[5] Pour les espèces de *Borrelia* responsables des fièvres récurrentes régionales à tiques.


HELMINTHES
(Métazoaires)
TREMATODES
CESTODES
NEMATODES
PROTOZOAIRES
AMIBES
FLAGELLES
CILIES
SPOROZOAIRES
CHAMPIGNONS
ET
BACTERIES
CLASSIFICATION
INCONNUE

Blastocystis hominis

Famille :

Opalinidae

Groupe : Protozoaires ?
"incertae sedis"

Classe :

Blastocystea

Distribution géographique :

Cosmopolite

Nom commun :

Pathologie :

- Incertaine ?

Hôtes définitifs :

- Homme
- ?

Hôtes intermédiaires :

Sans hôte intermédiaire

Vecteur ?

Mode de contamination :

? féco-oral ?

Localisation des pseudokystes :

Muqueuse du colon et dans l'épithélium entre les cellules.

Méthodes diagnostiques :

- Recherche des parasites dans les selles : Examen direct, technique de concentration par sédimentation (sur selles formolées).

Morphologie des pseudokystes :

Dimensions :	3 – 40 µm.
Forme :	Vacuolée, [multi-vacuolaire, granuleuse, kystique ou amiboïde].
Caractéristiques :	Les noyaux sont comprimés contre la membrane externe par une grande vacuole. La membrane peut être très épaisse.

Autres signes biologiques associés :

- ?

Confusions possibles :

- Kystes de protozoaires.

Remarques :

1. Ce parasite reste à bien des égards une énigme : tant pour son cycle et son pouvoir pathogène que pour sa taxonomie. Après avoir été classés parmi les champignons puis les algues, il serait un protozoaire (Cavalier-Smith, 1998). Sa pathogénécité éventuelle dépendrait de l'intensité d'infestation (Plus de 5 *Blastocystis* par champ microscopique [examen direct, grossissement 400 x]) ou d'une association avec d'autres organismes.
2. Le parasite n'est plus retrouvé après concentration par sédimentation (sauf si les selles ont été formolées ou fixées au préalable).
3. Il existe aussi des formes multi-vacuolaires, kystiques ou amiboïdes. Ces morphologies ne sont cependant pas reconnaissables à l'examen direct.
4. L'usage du lugol de D'Antoni peut être utile.

TECHNIQUES USUELLES DE DIAGNOSTIC EN PARASITOLOGIE

Par ces techniques, on essayera de mettre en évidence le (ou les) parasite(s) dans un ou plusieurs de ses stades de développement. Pour cela, un examen macroscopique et /ou un examen microscopique peuvent être utiles.

EXAMENS PARASITOLOGIQUES DES SELLES :

L'examen parasitologique des selles permet de mettre en évidence des helminthes et des protozoaires. Il donne ainsi le diagnostic de certitude d'un grand nombre de parasites qui quittent leur hôte dans les selles.

Les conditions de prélèvement déterminent la qualité du résultat de l'examen. Elles tiennent à la fois au malade, au parasite recherché et au matériel. Lors de la défécation et du prélèvement des selles, il ne faut pas de contact entre l'urine et les selles (altération des formes végétatives des protozoaires). Le prélèvement doit être réalisé avant la mise en route d'un traitement spécifique (cette règle générale est applicable à tous les prélèvements). Eviter les médicaments gênant l'examen coprologique ou prêtant à confusion (charbon, huiles laxatives, ultra levures, etc.). Eviter les examens complémentaires empêchant l'examen coprologique : la bouillie barytée en transit ou en lavement se retrouve dans les selles pendant une semaine environ. L'échantillon doit être déposé au laboratoire dans un emballage correct. Les selles ne peuvent pas être recueillies (ou conservées) sur du matériel absorbant (boites d'allumettes, cartons, papiers, langes, etc.) et ce pour éviter la dessiccation. L'idéal est d'utiliser des petits pots en pastique à large ouverture. En zone tropicale où se matériel n'est pas toujours disponible, un morceau de feuille fraîche de bananier peut éventuellement être utilisée. La conservation des selles à l'arrivée au laboratoire et avant examen, si celui-ci doit être différé, doit se faire de préférence au réfrigérateur à + 4°C.
Si l'examen doit être différé (envoi par la poste, etc.) et que le délai risque d'être long, il est recommandé d'ajouter un produit bloquant les fermentations sans trop altérer les éléments parasitaires (formol, merthiolate et mieux merthiolate iode formol [MIF] ou Sodium acetate/Acide acétique/formol [SAF]).

L'examen parasitologique des selles a ses limites :

- L'émission des éléments parasitaires peut être discontinue. Dans ce cas, il faut répéter les examens et ne pas se contenter d'un seul examen négatif.
- Il n'y a pas d'émission d'œufs, s'il n'y a que des vers adultes mâles (rare).
- Il n'y a pas d'émission d'éléments parasitaires pendant la phase de latence qui peut correspondre à la maturation *in situ* du parasite ou/et à la phase de migration interne.
- Tous les parasites du tractus digestif et de ses annexes ne donnent pas d'éléments parasitaires dans les selles, d'où la nécessité de bien connaître la biologie du parasite (exemples : œufs d'oxyures pondus à la marge de l'anus, embryophores de certains grands ténias évacués avec et dans les proglottis entiers, etc.).
- Certains œufs présents dans les selles peuvent indiquer non une infestation, mais contamination par des œufs de passage (*Fasciola* spp. par exemple).
- …

Fixation des selles (SAF)

Cette technique permet d'éviter la dégénérescence des parasites éventuellement présents dans les selles, sans modifier leur morphologie. Le but principal est de fixer la morphologie des trophozoïtes éventuellement présents dans les selles, pour pouvoir les identifier après coloration permanente (coloration à l'hématoxyline ferrique par exemple). Dans un pot à échantillon, ajoutez aussi vite que possible après émission, 1 volume de selles à 3 volumes de fixateur SAF. Après l'ajout des selles, mélangez immédiatement et vigoureusement durant plus ou moins 20 secondes. Prévoyez sur le pot à échantillon une étiquette de danger et une indication du niveau de liquide final [selles + SAF].

Examen macroscopique

Il est important de réaliser l'examen macroscopique dès l'arrivée de l'échantillon au laboratoire. Celui-ci consiste à déterminer la consistance (selles moulées, molles, diarrhéiques, aqueuses, dysentériques), la présence éventuelle de sang et de glaires et la présence de segments de vers ou de vers adultes. Les selles liquides et/ou sanglantes doivent avoir la priorité pour l'examen microscopique direct (Certains éléments, comme les formes végétatives des amibes, vont se décomposer ou se modifier assez rapidement après l'émission des selles et ne seront donc plus identifiables).

Examen direct :

L'examen direct consiste à faire un examen microscopique des selles à son arrivée au laboratoire, sans manipulation préalable, après adjonction tout au plus d'eau physiologique ou d'un colorant (Lugol, MIF [colorant fixateur pour les formes végétatives des protozoaires, bleu de méthylène tamponné, etc.).

- Si les selles sont liquides, placez une goutte de celles-ci sur une lame porte-objet. [Pour des selles muqueuses et/ou sanglantes, prélevez la partie muqueuse]. Recouvrez le tout d'une lamelle couvre-objet (20mm x 20mm). Examinez complètement et systématiquement à l'objectif 10 x la préparation pour la recherche des œufs, des larves (et des formes végétatives de *Balantidium coli*), puis examinez 3 lignes à l'objectif 40 x pour la recherche des protozoaires. Les détails éventuels des œufs seront observés au 40 x.

- Les selles de consistance normale ou presque normale sont mises en suspension sur la lame porte-objet dans une goutte d'eau physiologique. Recouvrez le tout d'une lamelle (20 mm x 20 mm) et examinez systématiquement à l'objectif 10 x pour la recherche des œufs, des larves et des formes végétatives, puis examinez 3 lignes à l'objectif 40 x pour la recherche des protozoaires. Les détails éventuels des œufs seront observés au 40 x.

L'examen systématique d'une lamelle 20 mm x 20 mm représente plus ou moins 2 mg de selles.

Nombre d'œufs par préparation	Notation semi-quantitative des résultats
1 à 2	Rares
3 à 9	+
10 à 19	++
20 à 29	+++
30 et plus	++++

Le nombre d'œufs trouvés dans l'examen systématique d'une préparation, permet d'évaluer très grossièrement la charge parasitaire. Cette évaluation peut cependant être utile en clinique. Le nombre d'œufs trouvés dépend du parasite et de son mode de reproduction, de la consistance et du volume des selles, de l'âge du patient, etc. Pour certains parasites, comme les T*ænia* spp., cette quantification n'a pas de sens. Pour les protozoaires, une évaluation de la charge parasitaire est peu utilisée en raison de sa faible corrélation à la gravité de l'atteinte clinique.

Examen d'un frottis épais (technique de Kato–Katz modifiée) :

Une relative grande quantité de selles est déposée sur une lame. Cette couche épaisse doit cependant être transparente pour pouvoir être observée au microscope. La préparation est donc recouverte d'un papier cellophane préalablement imbibé de glycérol-vert de malachite (des petits morceaux de 30 mm sur 20 mm de cellophane sont trempés pendant au moins 24 heures dans la solution glycérinée).
La préparation est aplatie par pression, puis après un temps d'éclaircissement de 30 minutes à 24 heures, examinée systématiquement au microscope. (Le temps d'éclaircissement dépend du type d'œuf recherché et de la concentration en glycérol).

Cette méthode est uniquement indiquée pour la recherche des œufs d'helminthes. En fonction du temps de contact, les œufs deviennent de plus en plus transparents sous l'action de la glycérine. Cet éclaircissement dépend de l'épaisseur de la coque des œufs. Si la lecture se déroule trop longtemps après préparation, certains œufs à coques minces deviennent invisibles. Cette méthode n'est donc pas indiquée comme examen de routine (qui doit permettre de retrouver tous les parasites). Elle reste toutefois une bonne technique lorsque l'on travaille sur un sujet bien déterminé (enquête épidémiologique de dépistage pour *Schistosoma mansoni* par exemple). Le temps d'éclaircissement doit être adapté aux œufs d'helminthes à mettre en évidence. La méthode peut être rendue quantitative en prenant une quantité donnée de selles (de 20 à 50 mg, usage d'un gabarit en matière plastique).

Coloration au lugol :

Cette technique permet de repérer plus facilement les kystes des protozoaires, en soulignant leurs caractéristiques morphologiques. Dans une solution iodée, le cytoplasme des kystes se colore en jaune ou en brun clair et les noyaux en brun foncé. Cette technique peut être combinée à un examen direct ou à un examen après enrichissement.

Sur une lame porte objet, mettez en suspension une petite quantité de selles dans une goutte de lugol de D'Antoni (Attention, cette solution est plus concentrée que celle utilisée en bactériologie). En raison de la taille des éléments à observer, examinez la préparation à un grossissement de 400x. Un micromètre oculaire est nécessaire pour permettre de mesurer la taille des kystes. Cette technique peut aussi être utilisée pour la coloration des œufs de *Schistosoma haematobium* dans la technique de filtration des urines.

Coloration rapide de Heine :

Cette technique de coloration négative permet de détecter les oocystes de *Cryptosporidium* spp. dans les selles. Mélangez sur une lame porte objet une goutte de selles (fraîche ou une goutte du culot de centrifugation après enrichissement de Ritchie) avec deux ou trois gouttes de Fuchsine de Ziehl-Neelsen. Réalisez un ou deux étalements minces de ce mélange. Après séchage à l'air (maximum 30 minutes), examinez l'étalement au microscope sous immersion à l'objectif 100x (ou à l'objectif 50 x). Les oocystes de *Cryptosporidium* spp. apparaissent comme des éléments arrondis ou ovoïde de 3 à 6 µm, incolores et fortement réfringents sur un fond rosâtre ou rougeâtre. Il est également possible d'observer la préparation avec un objectif 40 x (mettez une goutte d'huile sur la préparation, recouvrir d'une lamelle et observez au microscope à 40 x).

Coloration de Ziehl-Neelsen modifiée :

Cette technique permet de détecter les structures Alcoolo-Acido résistantes dans les selles soit principalement les oocystes de *Cryptosporidium* spp. Etalez les selles en frottis mince sur une lame porte-objet (éventuellement après dilution dans un peu d'eau physiologique). Le culot après enrichissement de Ritchie peut aussi être utilisé pour préparer un frottis. Après séchage complet à l'air, fixez la préparation soit par **un** passage à travers la flamme d'une lampe à alcool, soit par recouvrement avec du méthanol pendant 3 minutes. Recouvrez la préparation avec une solution de fuchsine de Ziehl-Neelsen et laissez agir au moins 10 minutes (**le chauffage de la solution de fuchsine n'est pas nécessaire dans le cadre de la recherche de cryptosporidies**). Eliminez la Fuchsine, rincez à l'eau et décolorez la préparation à l'alcool acide jusqu'au moment où le décolorant n'entraîne plus de fuchsine. Rincez à l'eau et contre colorez au bleu de méthylène pendant 30 secondes. Rincez à l'eau, laissez sécher et examinez au microscope sous immersion à l'objectif 100x (ou à l'objectif 50 x). Les oocystes de *Cryptosporidium* spp. apparaissent sur un fond bleu comme des éléments arrondis ou ovoïde de 3 à 6 µm rouge-violet, contenant souvent quelques petites taches colorées en rouge plus intense. Certains oocystes sont cependant rosés ou incolores. Ne pas confondre les oocystes avec des levures.

Cette même technique utilisée sur des selles ou des urines permet de faire une distinction d'espèces pour les Schistosomes.

Coloration à l'hématoxyline ferrique (coloration de Kinyoun) :

Cette technique de coloration permanente permet de détecter et d'identifier les formes végétatives et les kystes des protozoaires intestinaux. Elle est principalement utilisée pour la recherche des formes végétatives de *Dientamoeba fragilis* dans les selles. Il s'agit d'une excellente technique mais d'exécution longue et délicate, nécessitant de nombreux produits chimiques.
C'est une coloration régressive. Le mordançage et la surcoloration (imprégnation excessive des structures par le colorant) sont suivis d'une décoloration (enlèvement du colorant des structures qui le retiennent le moins).

Placez 1 goutte de selles **(préservées sur SAF)** et une goutte d'albumine de Mayer sur une lame porte-objet. Réalisez un frottis **mince** de ce mélange à l'aide d'un bâtonnet. Laissez sécher à l'air jusqu'à ce que le frottis soit opaque (approximativement 20 minutes, maximum 2 heures). Fixez la préparation par une immersion de 10 minutes dans de l'alcool à 70 %, puis rincez dans un bain d'eau pendant 2 minutes. Immergez la lame 20 minutes dans une solution de fuchsine de Ziehl puis rincez la lame à l'eau courante pendant 1 minute. Décolorez la lame pendant 2 minutes à l'alcool acide, puis rincez la lame à l'eau courante pendant 1 minute. Immergez la lame pendant 8 minutes dans la solution de travail d'hématoxyline ferrique, puis rincez la lame à l'eau pendant 1 minute. Immergez la lame dans la solution de travail d'acide picrique pendant 4 minutes, puis rincez la lame à l'eau courante pendant 10 minutes. Immergez la lame 3 minutes dans la solution d'alcool ammoniacal, puis déshydratez la préparation par deux bains successifs d'alcool absolu (5 minutes par bain). Immergez la lame dans 2 bains successifs de xylène (5 minutes par bain). Ajoutezr une goutte de liquide de montage (Entellan© Merck 1.07960), recouvrez d'une lamelle et laissez sécher pendant au moins 10 heures avant lecture. Examinez microscopiquement la lame sous immersion (objectif 100 x ou 50 x). 150 à 200 champs microscopiques doivent être examinés avant de donner une réponse négative. La préparation doit avoir un fond gris-bleu. Le cytoplasme des protozoaires apparaît bleu gris moyen alors que les noyaux apparaissent bleu intense-gris. Les kystes sont souvent plus colorés que les trophozoïtes. Les corps chromatoïdes, les globules rouges ingérés et les cristaux de Charcot-Leyden sont colorés en bleu-gris intense ou parfois en noir. Les œufs d'helminthes et les larves prennent la plupart du temps trop de colorant et ne seront pas identifiables. Les organismes Alcolo-Acido résistants apparaitront en rose-rouge.

Techniques de concentration :

Les éléments parasitaires sont souvent présents en petit nombre dans les selles. Dans ce cas, l'examen direct peut ne pas suffire pour déceler une infestation. Le but d'une technique de concentration est de traiter un volume assez important de selles afin de concentrer les parasites rares dispersés dans un grand volume vers un volume réduit. Ce petit volume pré-traité, qui contiendra donc un plus grand nombre de parasites, sera examiné comme pour lors d'un examen direct. Les techniques de concentration ne permettent cependant pas de mettre en évidence les formes végétatives des protozoaires qui sont détruites par le processus de concentration. L'examen direct d'une préparation à frais est donc la première étape obligatoire de tout examen microscopique.

Il existe un grand nombre de techniques de concentration avec différentes variantes. La majorité des techniques sont basées sur des différences poids spécifiques. Le tableau suivant donne à titre indicatif, les poids spécifiques de différents éléments.

ELEMENTS	POIDS SPECIFIQUES
Solution saturée en sulfate de Zinc	1.180
Eau physiologique formolée à 10 % (v/v)	1.019
Ether	0.714
Œufs d'*Ancylostoma duodenale*	1.055
Kystes de *Giardia lamblia*	1.060
Kystes d'*Entamoeba histolytica*	1.065 – 1.070
Kystes d'*Entamoeba coli*	1.065 – 1.070
Kystes d'*Endolimax nana*	1.065 – 1.070
Œufs fécondés d'*Ascaris lumbricoides*	1.110
Œufs de *Trichuris trichiura*	1.150
Kystes de *Chilomastix mesnili*	1.180
Œufs non fécondés d'*Ascaris lumbricoides*	1.200

Nous ne décrirons ici que les techniques les plus simples le plus couramment utilisées.

Technique de concentration par sédimentation (méthode diphasique de Ritchie modifiée) :

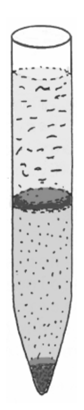
Les selles sont diluées dans un liquide de faible densité (eau physiologique), les résidus fécaux sont dissous dans l'éther et les parasites sont entraînés vers le fond par centrifugation. Cette méthode permet de concentrer tous les types d'œufs de vers, les larves et les kystes de protozoaires.

☠ **ATTENTION :** L'**éther** est une substance extrêmement inflammable qui s'enflamme et explose rapidement au contact d'une flamme ou d'une étincelle. Conservez les bidons ou les flacons entamés sous hotte chimique ou sur une étagère (pour que les vapeurs se dispersent) dans la partie la plus fraîche du laboratoire. Comme l'éther est très volatile, les flacons doivent être hermétiquement bouchés. Ne mettez PAS un flacon d'éther au réfrigérateur : les vapeurs s'accumulent dans celui-ci, même si le flacon est hermétiquement fermé, et peuvent exploser lors de l'ouverture de la porte. Ne rangez PAS des flacons entamés dans une armoire. N'ayez que des petites quantités d'éther dans le laboratoire.

☠ **ATTENTION :** Le **xylène** est une substance inflammable. Manipulez ce produit loin d'une flamme. Ce produit est aussi nocif par inhalation et par contact avec la peau. Il est encore irritant pour la peau. Evitez donc tout contact avec la peau et les yeux. Manipulez ce produit sous hotte chimique ou fenêtre ouverte.

☠ **ATTENTION :** Le **formol** est une substance toxique par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Les vapeurs de Formol sont irritantes pour les yeux et les muqueuses. Manipulez ce produit fenêtres ouvertes (ou sous une hotte chimique) en utilisant des gants.

- Suspendez environ 3 gr. de selles dans 42 ml d'eau physiologique (éventuellement formolée. Le formol offre deux avantages : l'inactivation de la majorité des parasites et la fixation des globules blancs qui se retrouvent alors dans le culot de centrifugation, mais déformés).
- Après homogénéisation (30 minutes d'inversion lente), versez environ 1.5 ml de cette suspension dans un tube à centrifuger à fond conique.
- Ajoutez environ 3,5 ml d'eau physiologique (éventuellement formolée).
- Ajoutez 5 ml d'éther. L'éther peut être remplacé par de l'essence pour voiture).
- Ajoutez éventuellement 2 gouttes de xylène. Le xylène n'est pas nécessaire, mais il diminue l'adhérence des débris sur tube en verre.
- Bouchez hermétiquement le tube à centrifuger et mélangez vigoureusement durant 1 minute.
- Enlevez le bouchon et centrifugez le tube à 2.000 RPM (650*g*) durant 5 minutes.



Après centrifugation, on retrouve 4 couches :

← Ether et graisses

← Débris

← Eau physiologique (formolée)

← Culot de sédimentation contenant les parasites éventuels

- Après centrifugation, on observe 4 couches dans le tube (cf. figure ci-contre).
- Décollez éventuellement le bouchon de débris des parois du tube avec un bâtonnet.
- Jetez le surnageant en renversant le tube d'un mouvement rapide.
- Prélevez le culot de centrifugation avec une pipette pasteur et le déposer sur une lame.
- Recouvrez d'une lamelle 20 mm x 20 mm, et observez systématiquement au microscope.

La technique de Ritchie permet aussi d'obtenir un résultat quantitatif : OPG (nombre d'œufs par gramme de selles). L'OPG n'est PAS utile pour les cestodes, *Enterobius vermicularis* et *Ascaris lumbricoides*.

Calcul : 3 grammes de selles dans un volume final de 45 ml. Comme on examine entièrement le culot de centrifugation obtenu sur 1,5 ml de cette dilution de selles, on obtient le nombre d'œufs présents dans 0,1 gramme de selles. En multipliant donc le nombre d'œufs comptés dans tout le sédiment par **10**, on obtient le nombre d'œufs par gramme de selles.

Technique de concentration par flottation (méthode de Willis modifiée) :

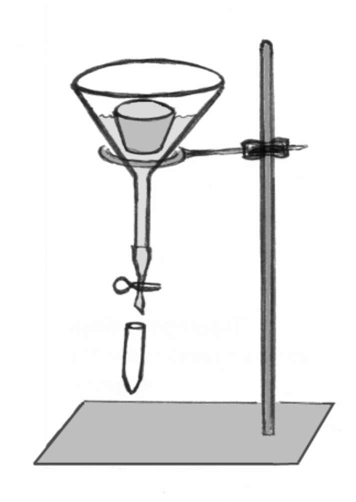
Les selles sont diluées dans un liquide de forte densité. Les parasites plus légers remontent à la surface. Cette technique permet de concentrer les kystes et les oocystes de protozoaires ainsi que les œufs des cestodes et de nématodes. (En raison du poids spécifique élevé des œufs de trématodes, aucune technique par flottation n'est indiquée).



- Suspendez 5 g de selles dans 100 ml d'une solution saturée de NaCl (ou $ZnSO_4$).
- Homogénéisez la suspension (tamisez la suspension si nécessaire à travers un tamis à thé).
- Versez la suspension dans un tube à essai à ras bord.
- Appliquez une lamelle sur l'ouverture du tube.
- Après 30 minutes, transférez la lamelle (toujours en position horizontale) sur une lame.
- Observez la préparation systématiquement au microscope.

Technique de concentration pour larves de nématodes (méthode de Baermann) :

La méthode de Baermann est une technique destinée à mettre en évidence les larves d'anguillules dans les selles. Elle est basée sur l'hygrotropisme et le thermotropisme de ces larves. Cette technique n'est utilisable que sur des selles moulée et fraîche. Elle n'est applicable ni sur des selles vielles de plus de 5 heures, ni sur des selles liquides ou diarrhéiques, ni sur des selles fixées, ni sur des selles prélevées après prise de Baryum.



- Mettez environ 20 g de selles (fraîches et moulées) dans une passoire pointue (de type « chinois » dont le diamètre des mailles de l'ordre de 0,6-0,7 mm), tapissée de deux couches de gaze (mailles de 0,6-0,7 mm).
- Déposez la passoire dans un entonnoir en verre relié à un tuyau fermé par une pince à clamper.
- Remplissez prudemment l'entonnoir d'eau tiède (30-35°C), jusqu'à immerger complètement les selles.
- Attendez au moins 6 heures (ou mieux une nuit), pour permettre aux larves de quitter les selles et d'aller dans l'eau.
- Ouvrez la pince du tuyau pour recueillir environ 10 ml de l'eau du fond de l'entonnoir dans un tube à centrifuger.
- Centrifugez le tube pendant 10 minutes à 2.000 RPM (650 *g*).
- Décantez délicatement le surnageant, déposez le culot de centrifugation sur une lame, recouvrez d'une lamelle et recherchez systématiquement les larves (la plupart du temps encore vivantes) au microscope (grossissement 100 x).

EXAMEN PARASITOLOGIQUE D'UNE BIOPSIE RECTALE :

La biopsie, écrasée entre deux lames porte-objet est examinée sans coloration sous microscope à l'objectif 10x pour la recherche des œufs de *Schistosoma* spp. et/ou des trophozoïtes de *Balantidium coli ;* ou à l'objectif 40x pour la recherche de trophozoïtes d'*Entamoeba histolytica*.

SCOTCH TEST (TAPE TEST OU TEST DE GRAHAM):

Ce test est utilisé pour la recherche des œufs d'*Enterobius vermicularis*. Comme les vers adultes femelles pondent principalement le soir et la nuit au niveau péri anal, le test doit se réaliser le matin avant défécation ou toilette. Il est également possible de retrouver accidentellement des œufs de *Tænia* spp. (La plupart du temps de *Tænia saginata*) lors de cet examen.

> ☠ **ATTENTION :** Comme les œufs sont très collants et directement infectants, Il est indispensable d'utiliser des gants et de se laver les mains après manipulation. Le risque d'infestation pour la personne effectuant le prélèvement sans précaution est important.

Repliez un ruban autocollant transparent sur l'extrémité d'un tube à essai, face collante dirigée vers l'extérieur. Tout en écartant les fesses du patient, appliquez l'extrémité du tube portant le ruban en différents endroits de la marge anale pour collecter les œufs éventuellement présents. Le ruban est ensuite collé sur une lame porte-objet et examiné au microscope (objectif 10x). Pour augmenter la qualité de l'image au microscope, il est conseillé de mettre un peu d'eau (ou un peu de d'hydroxyde de sodium à 1%) entre la lame et le ruban adhésif. Les extrémités du ruban doivent cependant rester sèches autrement il n'adhèrera pas à la lame.

DÉCOLORATION POUR DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL DES VERS ADULTES DE TÆNIA SPP. :

Le diagnostic différentiel de segments de vers adultes de *Tænia* spp. se fait sur le nombre de ramifications unilatérales de l'utérus des segments gravides. Pour faciliter la visualisation de l'utérus, on peut décolore les segments à l'acide acétique.

> ☠ **ATTENTION :** En raison du risque de cysticercose en cas d'ingestion d'œufs de *Taenia solium*, manipulez les vers adultes ou les segments avec grande prudence. Il est indispensable d'utiliser des pinces, de porter des gants et de se laver les mains après manipulation.

Trempez les segments dans une solution chaude (± 60°C) d'acide acétique à 5 %. L'acide acétique à 5 % peut être remplacé par du vinaigre de table. Incubez 30 minutes à 1 heure. Après incubation, écrasez les segments éclaircis entre deux lames porte-objet. Observez à l'œil nu, contre la lumière pour comptez le nombre de ramifications de l'utérus.

EXAMEN PARASITOLOGIQUE D'UN LIQUIDE DUODÉNAL :

Cet examen peut être utile pour la recherche des œufs de Fasciolidae, d'*Opisthorchis* spp. et d'*Heterophyes heterophyes*, ainsi que pour les formes végétatives de *Giardia lamblia*.

Le liquide duodénal, obtenu par tubage, est centrifugé dans un tube conique à 2.500 rpm (700 *g*) pendant 5 minutes. Le surnageant est éliminé et le culot de centrifugation est examiné complètement et systématiquement au microscope (objectif 10x). Pour la recherche de *Giardia lamblia*, l'examen se fait à l'objectif 40 x, tant à frais qu'après coloration au lugol de D'Antoni. **N.B. :** Comme le lugol immobilise les formes végétatives, l'identification devra se faire uniquement sur base d'une morphologie typique.

EXAMEN PARASITOLOGIQUE DES URINES :

On examine en général les urines pour rechercher des œufs de *Schistosoma haematobium*. On peut également retrouver des formes végétatives de *Trichomonas vaginalis*. Il est également possible de retrouver des microfilaires appartenant aux espèces *Wuchereria bancrofti* (le plus souvent en cas de chylurie), de Loa-loa (le plus souvent en cas d'hématurie) et d'*Onchocerca volvulus* dans les urines (plus rarement, le lus souvent en cours de traitement). Et finalement, on peut aussi retrouver plus rarement des œufs d'*Enterobius vermicularis* ou de *Tænia* spp. dans le sédiment urinaire.

Les conditions de prélèvement déterminent la qualité du résultat de l'examen. Elles tiennent à la fois au malade, au parasite recherché et au matériel.

Le nombre d'œufs de *S. haematobium* présents dans les urines varie au cours de la journée et montre un pic entre 10 et 14 heures. Les œufs sont plus facilement retrouvés en fin de miction. Un stress de la vessie (mouvements, gonflement) aide au décollement des œufs. Si les urines ne sont pas examinées rapidement, il est possible de retrouver des miracidiums très mobiles. Pour la recherche des œufs de *S. haematobium*, les derniers ml d'urines sont les plus importants, alors que *Trichomonas vaginalis* est plus présents dans le premier jet urinaire.
Ces éléments sont donc à prendre en compte dans le prélèvement. L'usage de récipients en plastique à large ouverture est recommandé. Le volume récolté doit être de 10 ml au minimum. En augmentant le volume d'urine récoltée, on augmente la sensibilité de la détection.

L'examen parasitologique des urines a ses limites :

- L'émission ou la présence d'éléments parasitaires dans les urines peut être discontinue. Dans ce cas, il faut répéter les examens et ne pas se contenter d'un seul examen négatif.
- Il n'y a pas d'émission d'œufs, s'il n'y a que des vers adultes mâles (rare).
- Il n'y a pas d'émission d'éléments parasitaires pendant la phase de latence qui peut correspondre à la maturation *in situ* du parasite, et/ou à la phase de migration interne et/ou au temps de passage pour les œufs des veinules à la lumière vésicale.
- …

La sédimentation et la filtration sont les deux méthodes employées pour déceler les œufs de *S. haematobium*. La sédimentation est moins sensible, mais elle est plus économique et plus simple à mettre en œuvre que la filtration. La technique de filtration est surtout utilisée dans des enquêtes épidémiologiques nécessitant des données quantitatives.

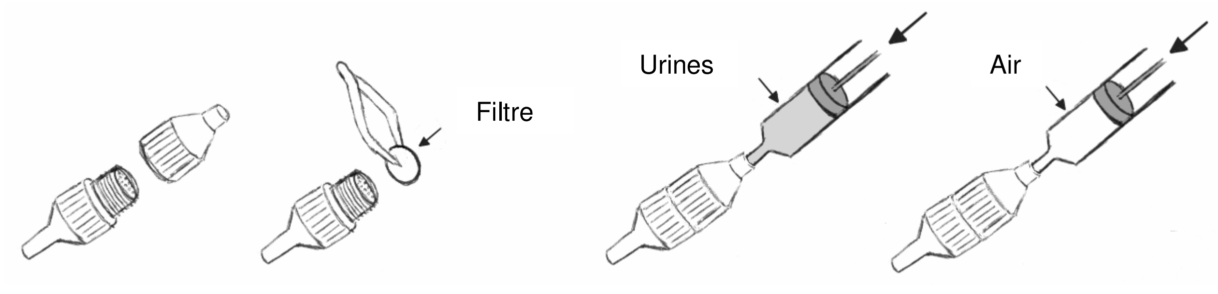
Technique de sédimentation :

Agitez soigneusement l'échantillon d'urine et versez-le dans un verre à pied conique. Laisser sédimenter pendant une heure au moins. Eliminez délicatement le surnageant en conservant environ 10 ml d'urine au fond du verre à pied. Mélangez et transvasezle dépôt dans un tube à centrifuger à fond conique. Centrifugez le tube à 2.500 rpm (1.000 *g*) pendant 5 minutes. Eliminez prudemment le surnageant, remettez le culot de centrifugation en suspension, transvasez le tout sur une lame, recouvrez d'une lamelle et observez systématiquement toute la préparation au microscope pour rechercher les œufs de *Schistosoma haematobium* (objectif 10 x). [La recherche de *Trichomonas vaginalis* se fait en utilisant un objectif 10 x et 40 x].

Technique de filtration :

Adaptez un filtre (porosité de 12 à 20 µm) dans le porte-filtre. Après avoir bien homogénéisé les urines, prélevez 10 ml dans une seringue. Adaptez la seringue au porte-filtre. En maintenant le tout vertical, faites passer l'urine à travers le filtre. Dévissez soigneusement le porte-filtre. Remplissez la seringue d'air, refixez-la au porte filtre et expulsez l'air. Cette étape est importante, car elle permet d'éliminer l'excès d'urine dans le porte-filtre et de plaquer les œufs s'il y en a, sur le filtre. Dévissez le porte-filtre, retirez le filtre avec une pince et déposez-le sur une lame, face filtrante vers le haut. Recouvrez d'une lamelle et observez systématiquement le filtre au microscope (objectif 10x). Il est possible d'ajouter une goutte de lugol de D'Antoni pour augmenter la visibilité des œufs par leur coloration orange. Grâce à cette technique de filtration, Il est possible d'avoir un résultat quantitatif (nombre d'œufs par ml d'urine).

Il existe plusieurs types de filtres : Des filtres à usage unique en papier ou des filtres [réutilisables] en nylon (Nytrel®) ou en polycarbonate (Sartorius®, Millipore®,...). Avant réutilisation, les filtres doivent être décontaminés une nuit dans de l'eau de javel domestique (Hypochlorite à 1%), lavés et vérifiés. La vérification des filtres consiste à examiner systématiquement le filtre nettoyé au microscope pour s'assurer qu'il est bien débarrassé de tout parasite.



EXAMEN PARASITOLOGIQUE D'UN CRACHAT :

Examen direct :

Ce test est utilisé pour la recherche des œufs de *Paragonimus* spp. Plusieurs parasites font un passage pulmonaire durant leur migration somatique (*Ascaris* spp., Ancylostomidae, etc.). Un examen des crachats n'est cependant pas indiqué pour leur diagnostic.

> ☠ **ATTENTION :** L'hémoptysie, symptôme courant de l'infestation par *Paragonimus* spp. est aussi un signe possible de tuberculose pulmonaire. En raison du risque élevé de production d'aérosols potentiellement dangereux durant l'examen parasitologique, éliminer la possibilité de tuberculose avant toute recherche parasitologique dans un crachat. (*cf.* notes de bactériologie, pour plus de détails concernant la procédure).

Des instructions précises doivent être données à chaque patient sur la manière de produire un bon échantillon. Une bonne procédure de prise d'échantillon est en effet indispensable pour obtenir des résultats de laboratoire fiables à moindre risques pour le personnel :

Le risque d'infection du personnel de santé (mais aussi d'autres personnes) est important lorsqu'un patient suspect de tuberculose tousse. Pour cette raison, la prise d'échantillon doit se faire à l'extérieur, le plus loin possible d'autres personnes, en tenant compte de l'orientation du vent. En cas d'impossibilité, une pièce spéciale, séparée et très bien ventilée, peut être utilisée (attention à la position du patient par rapport aux ventilations et au sens des courants d'air provenant de portes ou de fenêtres ouvertes).
Chaque crachoir doit être identifié (date, nom du patient, numéro de patient, n° de l'échantillon, etc.). Pour éviter tout risque d'inversion, ces données doivent figurées sur le pot et non sur le couvercle du crachoir.
Des crachoirs en plastique dur, à usage unique avec couvercle à vis étanche et avec un **diamètre d'ouverture de 2 à 3 cm** sont vivement recommandés. En cas d'impossibilité, des crachoirs réutilisables en verres, avec les mêmes caractéristiques peuvent être utilisés (ils doivent alors bien évidemment être décontaminés, lavés et stérilisés avant toute réutilisation). Les crachoirs doivent être transparents pour permettre un contrôle visuel de la qualité du prélèvement sans devoir les ouvrir.
Le crachat doit provenir du plus profond possible du poumon. Ceci peut le plus souvent être obtenu après plusieurs profondes inspirations suivies d'une expiration forcée. Le volume de l'échantillon doit être suffisant (3 à 5 ml) et doit contenir des particules solides ou purulentes. (La salive n'est pas un bon échantillon en raison du faible nombre de bacilles pulmonaires que l'on peut y trouver et de la présence possible de mycobactéries commensales. Il en est de même pour les sécrétions nasales). Le crachat n'est cependant pas toujours purulent, pour un tuberculeux en cours de traitement.
On récolte **2 ou 3 crachats** : le premier sur place lors de la consultation (on the spot sputum), le deuxième à la maison (crachat du saut du lit ou early morning sputum) et éventuellement le troisième sur place à l'occasion de la consultation suivante. (Le processus nécessite donc 2 jours). Le meilleur échantillon sera le prélèvement matinal qui concentre les sécrétions de toute une nuit. Pour cette raison, dans certains programmes de lutte contre la tuberculose, deux crachats matinaux et un crachat sur place sont utilisés.

> **Comment juger de la qualité d'un crachat :** Un bon prélèvement ne doit pas ressembler à de l'eau. Sa couleur peut varier : du blanchâtre au jaunâtre purulent, avec parfois un peu de sang. (Du sang pur n'est pas cependant pas adéquat). Un échantillon ressemblant à de la salive devrait être refusé, et le patient devrait être encouragé à produire un nouvel échantillon valable. Au cas où rien de mieux ne peut être obtenu (surtout en cours de traitement pour une tuberculose), un échantillon aqueux pourrait cependant être analysé.
> La qualité du crachat peut aussi être évaluée après étalement et coloration : Un échantillon salivaire sera très peu épais et souvent avec des « bulles ». Sous le microscope, un vrai crachat doit contenir des filaments muqueux et des globules blancs, tandis qu'un prélèvement salivaire contiendra principalement des cellules épithéliales. Un vrai crachat devrait contenir 20 x plus de globules blancs que de cellules épithéliales.

Un crachat peut être conservé assez longtemps avant analyse microscopique bactériologique (plus d'une semaine à température ambiante pour recherche de BAAR). Ceci n'est bien évidemment pas vrai pour des cultures ou pour la recherche de parasites.

Après examen bactériologique négatif, transvasez environ 5 ml de crachat dans un tube à centrifuger à fond conique. Ajoutez 5 ml d'une solution d'hydroxyde de sodium ou de potassium à 1 % (p/v). Fermez hermétiquement le tube avec un bouchon et mélangez vigoureusement durant une minute. La solution d'hydroxyde liquéfiera et éclaircira le crachat. Après une heure de repos, re-mélangez vigoureusement le tube durant une minute. Centrifugez le tube à 2.500 rpm (700 *g*) pendant 5 minutes. Eliminez le surnageant et transvasez le culot de centrifugation sur une lame porte-objet. Recouvrez d'une lamelle et observez complètement et systématiquement au microscope (objectif 10x). Regarder plus attentivement les masses grisâtres présentes qui cachent souvent les œufs.

Coloration au RAL-555 :

Technique plutôt utilisée pour la recherche de *Pneumocystis jiroveci* dans un produit de lavage alvéolaire ou dans une biopsie ou une ponction pulmonaire. Cette coloration permet de mettre **l'intérieur des kystes** en évidence. Elle peut être remplacée par une coloration au Giemsa (identique à celle d'un frottis sanguin). Centrifugez (10 minutes, 2.000 RPM ou 600 *g*) le produit de lavage alvéolaire et réalisez un frottis mince du culot de centrifugation (ou réalisez des empreintes de la biopsie sur des lames). Après séchage à l'air, fixez les lames au méthanol puis immergez-les pendant 25 secondes dans le réactif 2 (solution aqueuse d'éosine, code RAL 361643). Plongez ensuite dans les lames pendant 40 secondes dans le réactif 3 (solution aqueuse de bleu de méthylène, code RAL 361653). Rincez à l'eau courante. Il n'est pas nécessaire de rincer les lames entre les différents bains. Après séchage, les lames sont observées au microscope (objectif 100 x, oculaire 10 x). Les renseignements concernant les réactifs RAL et leurs distributeurs peuvent être obtenus sur le site internet : http://www.reactifs-ral.fr/

Coloration au Bleu de toluidine O (Chalvardjian et all, 1963, modifiée par Marty et all 1981):

Technique plutôt utilisée pour la recherche de *Pneumocystis jiroveci* dans un produit de lavage alvéolaire ou dans une biopsie ou une ponction pulmonaire. Cette coloration permet de mettre les **parois des kystes** en évidence. Centrifugez (10 minutes, 2.000 RPM ou 600 *g*) le produit de lavage alvéolaire et réalisez un frottis mince du culot de centrifugation (ou réalisez des empreintes de la biopsie sur des lames). Après séchage à l'air, fixez les lames au méthanol puis immergez-les pendant 5 minutes dans le réactif de sulfatation. Après rinçage à l'eau courante, les lames sont plongées 5 minutes dans une solution de bleu de toluidine O. Les lames sont ensuite passées dans 3 bains d'alcool isopropylique (environ 1 minute par bain). Après séchage, les lames sont observées au microscope (objectif 100 x, oculaire 10 x).

EXAMEN PARASITOLOGIQUE D'UNE SÉCRETION VAGINALE :

Cette technique est utilisée pour la recherche de *Trichomonas vaginalis*. Prélevez à l'aide d'un écouvillon les sécrétions vaginales, de préférence à hauteur du col de l'utérus. Roulez immédiatement et délicatement l'écouvillon sur une lame. La sécrétion vaginale ainsi obtenue est recouverte d'une lamelle et immédiatement observée au microscope (objectif 10 x et 40 x). Si le prélèvement est trop épais, ajoutez une goutte d'eau physiologique. Comme cette technique est basée sur le mouvement pour détecter le parasite, l'observation microscopique doit se faire le plus rapidement possible après prélèvement.

Examens parasitologiques du sang :

Ces techniques sont valables pour les agents infectieux suivants : Microfilaires sanguines, *Plasmodium* spp., *Trypanosoma* spp., les *Borrelia* des fièvres récurrentes et les *Babesia* spp. Chacune des techniques suivantes n'est cependant pas toujours utile pour tous les parasites mentionnés.

Examen direct :

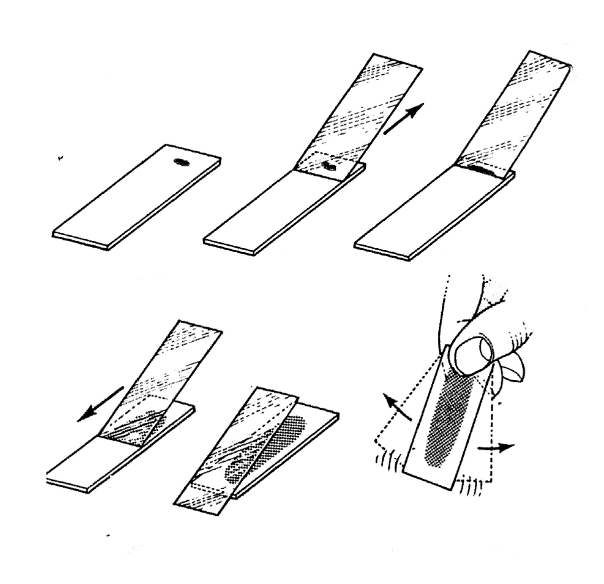
Cette méthode est la plus facile mais aussi la moins sensible pour déceler la présence de parasites assez grands et mobiles dans le sang (les trypanosomes, les *Borrelia* spp. des fièvres récurrentes et les microfilaires sanguines). Elle est cependant fastidieuse puisqu'il faut observer systématiquement la préparation microscopique. Comme autre inconvénient, il est à signaler qu'il faut observer immédiatement les lames après leur préparation surtout pour la recherche de trypanosomes. En effet, les trypanosomes étant reconnus à leur mouvement, il faut procéder à l'examen microscopique avant qu'ils ne s'immobilisent, c'est-à-dire 10 à 15 minutes après le prélèvement sanguin. (Attention : Les UV du rayonnement solaire immobilisent aussi les trypanosomes). Ce test présente cependant un certain intérêt, surtout pour la trypanosomiase à *rhodesiense* au sommet de la vague parasitaire, au moment où l'on peut retrouver un nombre relativement important de trypanosomes dans le sang et pour les fièvres récurrentes (échantillon de sang pris au pic de fièvre). Ceci permet d'éviter de recourir à des techniques plus perfectionnées et plus coûteuses. Le seuil de positivité est de l'ordre de 15 à 40 microfilaires et 10.000 trypanosomes par ml de sang.

Une petite goutte de sang [prélèvement capillaire ou veineux sur un anticoagulant tel que l'EDTA pour la recherche de microfilaires ou de *Borrelia ;* ou l'héparine pour la recherche de trypanosomes] est placée sur une lame et recouverte d'une lamelle. La préparation est examinée directement au microscope à l'objectif 10 x pour la recherche de microfilaires (ou 40 x pour la recherche de *Borrelia* spp. ou de trypanosomes).

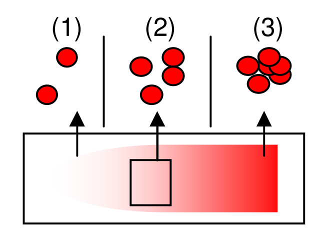
Frottis sanguin :

Cette méthode, assez peu sensible n'est vraiment utile en parasitologie que pour l'identification exacte de l'espèce de *Plasmodium* infestant une personne (et plus exceptionnellement pour la recherche et/ou l'identification de *Babesia* spp). Elle est principalement utilisée en hématologie pour la différentiation des globules blancs et l'analyse de la morphologie cellulaire.

Une *petite* goutte de sang [provenant d'un prélèvement capillaire ou d'un prélèvement veineux sur un anticoagulant ne déformant pas les cellules tel que l'EDTA] est déposée à l'extrémité d'une lame porte objet. Sans attendre, déplacez le petit côté d'une autre lame (rodée de préférence) pour venir toucher la goutte de sang. Les deux lames doivent former un angle compris entre 30° et 45 °. Attendez que le sang se répande par capillarité entre les deux lames. Poussez ensuite la lame inclinée vers l'autre extrémité de la lame porte objet en entraînant derrière elle le sang qui s'étale en couche mince. Ce mouvement doit être régulier et ininterrompu jusqu'à épuisement de la goutte de sang. Il doit aussi être ni trop lent, ce qui produirait un frottis trop court et trop épais ; ni trop rapide, ce qui donnerait un frottis trop long et trop fin. Immédiatement après confection du frottis, agitez la lame pour la faire sécher rapidement. En zone tropicale, le séchage d'un frottis durant la saison des pluies peut-être trop long. L'usage d'un sèche-cheveux permet alors de diminuer le temps de séchage et d'éviter la déformation des globules rouges.



Un bon frottis est assez épais au début de l'étalement (3) pour s'amincir et finir en forme de flamme avant la fin de la lame (1). La partie intermédiaire du frottis (2) est la plus appropriée pour l'examen macroscopique. Dans cette zone, on doit retrouver une couche monocellulaire de cellules, sans superposition.



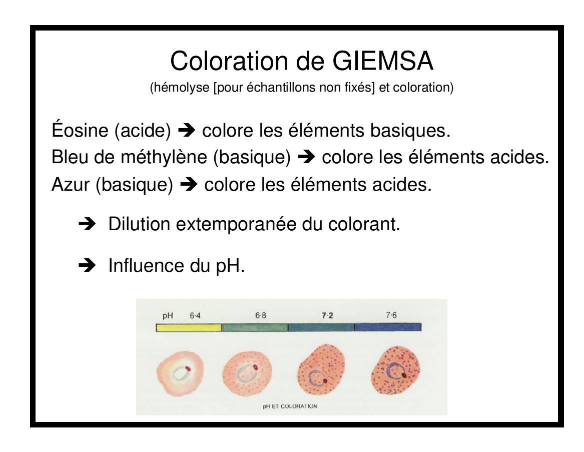
Fixez la préparation en faisant couler 2 ou 3 gouttes de méthanol absolu sur le frottis disposé verticalement. Après évaporation du méthanol, la lame peut être colorée au **Giemsa** : Couvrez complètement la préparation de Giemsa dilué à 3,5 % dans de l'eau tamponnée à un pH adapté aux parasites recherchés (*cf.* tableau). [Soit pour obtenir une dilution à 3,5% préparez par lame à colorer, 4 ml d'eau tamponnée à laquelle vous ajoutez 5 gouttes de Giemsa concentré [Merck N° 1.01424]. Laissez colorer pendant 20 à 30 minutes. Egouttez et rincez prudemment à l'eau courante. Laissez sécher et examinez au microscope sous immersion à l'objectif 100x (ou à l'objectif 50x).

Pour éviter la dégradation du Giemsa par réaction acide-base, la préparation de la dilution du Giemsa doit aussi être extemporanée. Le Giemsa concentré doit aussi être filtré avant utilisation (au moment du transvasement dans un petit flacon compte gouttes. Pour obtenir de bonnes colorations, il est indispensable que l'eau de dilution ait un pH adéquat au but poursuivi. Une eau trop acide colore tout trop rouge, alors qu'une eau alcaline colore tout trop bleu. Utilisez un pH adapté à l'examen.

pH	6.6	6.8	7.0	7.2	7.4	7.6	7.8	8.0
Utilisations	**Hématologie**	**Hématologie et Leishmanioses**	**Paludisme**	**Paludisme**		**Trypanosomiases**		**Paludisme* et Microfilaires**

* le pH de 8,0 permet de mettre en évidence les taches de Maurer de *P. falciparum*.

Dans un petit laboratoire, pour éviter des erreurs, il est cependant préférable de standardiser le pH de l'eau de dilution à 7,2 pour tous les examens, y compris l'hématologie (compromis acceptable pour tous les usages).



La coloration panoptique de Pappenheim (May-Grünwald-Giemsa), qui sert à colorer les frottis pour formules leucocytaires, peut aussi être utilisée à la place de la coloration de Giemsa, sans améliorer notablement la coloration des parasites sanguins.

Coloration de **May-Grünwald-Giemsa** : Pour une coloration au May-Grünwald-Giemsa, la fixation du frottis au méthanol n'est pas nécessaire : La première étape de cette coloration assure la fixation du frottis. Dès que le frottis est sec, recouvrez complètement la lame de May-Grünwald [Merck N° 1.01424] et laissez agir 3 minutes (fixation). Ajoutez ensuite gouttes à gouttes, 4 ml d'eau tamponnée à un pH adapté à l'examen. (*cf.* tableau supra). Laissez agir le colorant dilué 1 minute, puis éliminez-le. Sans rincer, recouvrez la lame de Giemsa dilué à 3,5 % dans de l'eau tamponnée à un pH adapté à l'examen (*cf.* tableau supra). [Soit pour obtenir une dilution à 3,5% préparez par lame à colorer, 4 ml d'eau tamponnée à laquelle vous ajoutez 5 gouttes de Giemsa concentré [Merck N° 1.01424]. Laissez colorer pendant 20 à 30 minutes. Egouttez et rincez prudemment à l'eau courante. Laissez sécher et examinez au microscope sous immersion à l'objectif 100x (ou à l'objectif 50x).

N.B. : Numération parasitaire en frottis sanguin (uniquement valable dans le cadre de la malaria et des infestations à *Babesia spp.)* :

La numération parasitaire en **frottis sanguin** se fait en comptant le nombre de globules rouges parasités par des formes **asexuées** du parasite sur au moins 25 champs microscopiques à l'objectif 100 x (ou l'objectif 50 x). Cette méthode nécessite la détermination préliminaire du nombre moyen d'érythrocytes présents par champs microscopique (cette valeur est de l'ordre de 200 mais varie considérablement en fonction de la qualité de l'étalement et du grossissement utilisé). Elle nécessite aussi la numération des globules rouges.

$$\frac{\text{Nombre d'érythrocytes infecté}}{\text{Nombre d'érythrocytes observés}} \times \text{Concentration érythrocytaire} = \text{Nombre de parasites/µl de sang}$$

Le rapport du nombre de globules parasités par champ microscopique sur le nombre total d'érythrocytes par champ donne le pourcentage d'hématies parasitées.

$$\frac{\text{Nombre d'érythrocytes infecté}}{\text{Nombre d'érythrocytes observés}} \times 100 = \text{\% d'hématies parasitées}$$

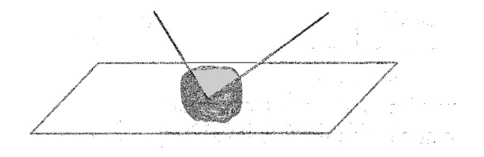
Si le nombre de globules rouges par microlitres de sang n'est pas connu, on considère que 1% d'hématies parasitées corresponds à 50.000 parasites par µl de sang.

Goutte épaisse :

Cette méthode est une technique de concentration. Elle utilise +/- 4 fois la quantité de sang (20 µl) nécessaire pour un frottis mince (5 µl). Comme le sang est moins étalé, les parasites éventuellement présents sont plus fréquents par unité de surface. Cette technique est utilisable pour la recherche des *Plasmodium* spp., des trypanosomes, des microfilaires sanguines et des *Borrelia* spp. responsables des fièvres récurrentes.

Le seuil de positivité est de l'ordre de 5 à 10 (100 en routine) plasmodies par µl de sang, 10.000 trypanosomes ou 15 à 40 microfilaires par ml de sang.

Une goutte de sang est placée sur une lame porte objet et immédiatement défibrinée pendant 20 à 30 secondes par un mouvement en spirale fait à l'aide du coin d'une autre lame (la défibrination est préférable à l'utilisation d'un anticoagulant, l'EDTA étant le moins mauvais, sauf pour la recherche de trypanosomes pour lesquels l'héparine est préférable).



Ce mouvement aura aussi pour effet d'étaler le sang sur une surface de 1 à 2 cm de diamètre. L'étalement doit être d'une épaisseur telle qu'il est possible de voir des caractères d'un journal à travers. Laisser sécher sans chauffage et sans exposition au soleil pour éviter la fixation des hématies qui empêcherait leur destruction. La goutte épaisse ne peut être colorée que si elle est complètement sèche. Pour éviter une contamination croisée entre différentes gouttes épaisses lors de la coloration, l'usage de cuve de coloration est à éviter. Couvrez complètement la préparation de Giemsa dilué à 3,5 % dans de l'eau tamponnée à un pH adéquat (*cf.* tableau supra) [Soit pour obtenir une dilution à 3,5% préparez par lame à colorer, 4 ml d'eau tamponnée à laquelle vous ajoutez 5 gouttes de Giemsa concentré [Merck N° 1.01424]. ***[Pour la recherche et l'identification des microfilaires, la coloration de Giemsa devrait être deux fois plus longue (40 minutes) et le Giemsa deux fois plus concentré (10 gouttes de Giemsa concentré pour 4 ml d'eau tamponnée idéalement à pH 8)].*** La solution aqueuse de Giemsa aura une double action : hémolyse et coloration. Egoutter et rincer **prudemment** à l'eau courante. Laisser sécher et examiner au microscope (à l'objectif 10 x pour la recherche de microfilaires, ou sous immersion pour la recherche des autres parasites sanguins). Les globules rouges ont éclaté et seuls sont restés sur la lame les leucocytes et les parasites éventuels.

Pour éviter la dégradation du Giemsa par réaction acide-base, la préparation de la dilution du Giemsa doit aussi être extemporanée. Le Giemsa concentré doit aussi être filtré avant utilisation (au moment du transvasement dans un petit flacon compte gouttes. Pour obtenir de bonnes colorations, il est indispensable que l'eau de dilution ait un pH adéquat au but poursuivi. Une eau trop acide colore tout trop rouge, alors qu'une eau alcaline colore tout trop bleu. Utilisez un pH adapté à l'examen.

pH	6.6	6.8	7.0	7.2	7.4	7.6	7.8	8.0
Utilisations	**Hématologie**	**Hématologie et Leishmanioses**	**Paludisme**	**Paludisme**		**Trypanosomiases**		**Paludisme et Microfilaires**

Dans un petit laboratoire, pour éviter des erreurs, il est cependant préférable de standardiser le pH de l'eau de dilution à 7,2 pour tous les examens, y compris l'hématologie (compromis acceptable pour tous les usages).

N.B. : Numération des parasites en goutte épaisse (uniquement valable dans le cadre de la malaria) :

La recherche de parasites est considérée comme négative si aucun parasite n'a été retrouvé durant l'examen d'au moins 200 champs microscopiques à l'objectif 100 x (ou objectif 50 x). Ceci nécessite à peu près 5 à 10 minutes pour un technicien expérimenté.

La numération parasitaire en goutte épaisse, se fait en comptant le nombre de formes asexuées de parasites par 200 leucocytes (nombre de parasites comptés dans autant de champs microscopiques qu'il est nécessaire pour compter un peu plus de 200 leucocytes). Pour *Plasmodium falciparum*, les gamétocytes doivent être reportés séparément. En connaissant la concentration leucocytaire, on peut obtenir le nombre de parasites par µl de sang :

$$\frac{\text{Nombre de parasites asexués comptés}}{\text{Nombre de leucocytes comptés}} \times \text{Concentration leucocytaire} = \text{Nombre de parasites/µl de sang}$$

Si la numération leucocytaire n'est pas réalisée, l'OMS recommande d'utiliser comme valeur 8.000 leucocytes par µl de sang pour tous les patients.

Chez des personnes non immunes, des parasitémies mêmes faibles peuvent donner lieu à des phénomènes pathologiques. En absence d'immunité surtout, la corrélation entre la densité parasitaire de *P. falciparum* et la gravité des symptômes est nette. [N.B. : Dans les infestations à *P. falciparum*, l'examen de séries de frottis prélevés toutes les 6 à 12 heures montrent d'importantes fluctuations dans les densités parasitaires. Ceci est dû à la séquestration des érythrocytes parasités au moment de la schizogonie. Dans les infestations où le développement des parasites est synchrone, ceux-ci peuvent disparaître temporairement des prélèvements].

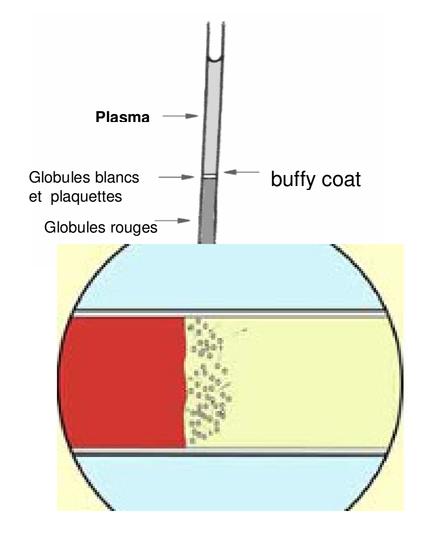
Pour la routine d'un petit laboratoire tropical, une estimation de la charge parasitaire en goutte épaisse est suffisante pour *Plasmodium* spp. Ce système proposé par l'O.M.S. indique l'abondance relative des formes **asexuées** des parasites à l'aide d'un code allant de 1 à 4 signes « plus », comme suit :

Echelle OMS simplifiée pour exprimer la parasitémie

1 - 9 parasites asexués / 100 champs = +
1 - 9 parasites asexués / 10 champs = ++
1 - 9 parasites asexués / 1 champs = +++
> 10 parasites asexués / 1 champs = ++++

Woo :

Bonne technique de concentration pour la recherche des trypanosomes, des microfilaires sanguines et des *Borrelia* spp. responsables des fièvres récurrentes. Cette technique est relativement facile à réaliser, mais nécessite l'utilisation d'une centrifugeuse hématocrite électrique. Ce test est très sensible car il concentre les parasites à partir de 50 à 60 µl de sang. Cette technique ne permet cependant pas d'identifier le type de microfilaire. De plus, en cas de présence de microfilaires, il est impossible de visualiser les trypanosomes ou les *Borrelia* spp. éventuellement présents. L'examen microscopique des tubes reste délicat même pour un technicien expérimenté. Le seuil de positivité est de l'ordre de 250 trypanosomes et 25 microfilaires par ml de sang.



La centrifugation d'un tube capillaire rempli de sang provoque la séparation des globules rouges et du plasma. (Centrifugation de 5 minutes à 12.000 rpm ou 15.000 *g*). Les leucocytes et les thrombocytes qui sont plus légers que les hématies se regroupent à l'interface entre la colonne rouge et le plasma, et forment ainsi un trait blanchâtre (le buffy coat). Les parasites qui ont à peu près la même densité que les globules blancs, se retrouvent dans la même région.

Après centrifugation, le tube est déposé sur une lame spéciale et immergé dans de l'eau. La lame porte tube est placée sous l'objectif du microscope. Centrez l'objectif sur l'interface du tube à lire, au niveau du buffy coat. Les parasites apparaissent animés de mouvements ondulants, soit libres dans le plasma à proximité de la couche de globules blancs, soit enfoncés dans cette couche ce qui les rend plus difficiles à observer. Quel que soit l'objectif utilisé (10x ou 20x), il ne peut permettre la lecture sur toute la profondeur du tube, aussi faut-il tourner le tube sur lui-même pour pouvoir examiner tout l'interface. Comme l'épaisseur de la préparation empêche l'utilisation d'un objectif 40x standard, il peut être utile d'utiliser des oculaires 15x.

Pour identifier les parasites retrouvés, on pourrait envisager de couper le capillaire au niveau de la couche des globules blancs, d'étaler cette fraction sur une lame et de réaliser une coloration au Giemsa. Cependant, en raison du risque important de se blesser et donc de s'infecter, cette procédure est à déconseiller.

QBC (Quantitative Buffy-Coat) :

Technique de concentration pour la recherche des trypanosomes, des *Plasmodium* spp. et des microfilaires. Elle permet aussi de mettre en évidence les *Borrelia* spp. des fièvres récurrentes et les *Babesia* spp. Elle consiste en une centrifugation en tube capillaire combinée à une coloration par l'acridine orange. Le seuil de positivité est de l'ordre de 100 plasmodies par µl de sang, de 250 trypanosomes ou de 25 microfilaires par ml de sang.

Après centrifugation à haute vitesse (5 minutes, 12.000 rpm ou 15.000 *g*), les globules rouges parasités par des *Plasmodium* moins denses que les globules rouges non parasités se rassemblent aussi au niveau de l'interface avec le plasma. L'acridine orange, agent intercalant spécifique des acides nucléiques, induit, après excitation par une source lumineuse appropriée (UV), une coloration métachromatique différentielle entre l'ADN (vert pomme à jaune vert) et l'ARN (vert à rouge orangé). Les Plasmodies sont donc visibles grâce à leur noyau dans les érythrocytes non nucléés. Un flotteur, d'un diamètre légèrement inférieur au tube capillaire, vient se positionner à cheval sur la couche leucocytaire et érythrocytaire, provoquant une expansion mécanique des cellules qui l'entourent au voisinage de la paroi du tube où elles seront plus facilement observables.

La lecture au microscope à fluorescence (objectif 50 X) est possible immédiatement. Elle permet de visualiser sous le plasma, la couche plaquettaire, la couche lympho-monocytaire, la couche des granulocytes et enfin le sédiment érythrocytaire. La mise au point se fait sur la couche érythrocytaire au niveau de l'interface avec les leucocytes. En cas de négativité, toute la hauteur du sédiment est examinée.

La morphologie des parasites reste comparable à celle observée sur un étalement mince : Sur un fond sombre, où les membranes érythrocytaires dessinent une trame, les trophozoïtes s'observent en position intra-érythrocytaire. Le noyau émet une fluorescence verte intense, homogène, de 1 à 2 µm de diamètre. Le cytoplasme, de taille variable, émet une fluorescence de vert à orange, moins intense et à bords nets. Il enserre le noyau et délimite une zone non fluorescente correspondant à la vacuole. Le diagnostic repose donc sur une image associant un noyau et un cytoplasme en position intra-érythrocytaire. Les trypanosomes et les microfilaires sont en plus toujours mobiles facilitant leur mise en évidence. Le diagnostic d'espèce n'est cependant pas possible. Cette technique n'est pas recommandée pour la recherche de microfilaires des *Borrelia* spp. ou des *Babesia* spp., mais est très utile dans le cadre de la recherche des trypanosomes.

Méthode de Knott :

Il s'agit d'une méthode asse sensible pour la recherche des microfilaires. La limite de détection est de l'ordre d'une microfilaire par ml de sang.

1 ml de sang est mélangé avec 10 ml de formol à 2 % v/v. Cette concentration en formol est suffisante pour fixer les microfilaires, sans fixer les globules rouges qui seront donc hémolysés. Après hémolyse, le mélange est centrifugé à 1.000 rpm (160 *g)* pendant 5 minutes. Le surnageant est éliminé et le culot étalé sur une lame. Après coloration au Giemsa (comme pour une goutte épaisse), la lame est examinée systématiquement au microscope (objectif 10 x). Si nécessaire, les grossissements 400 x et 1.000 x peuvent être utilisés pour l'identification de l'espèce.

Méthode de Strout :

Il s'agit d'une méthode assez sensible, utilisée pour la recherche des formes trypomastigotes de *Trypanosoma cruzi*.

Prélevez 20 ml de sang sans anticoagulant. Laissez coaguler le sang. Après coagulation, enlevez le caillot. Centrifugez le sérum ainsi obtenu à 2.500 rpm (1.000 *g)* pendant 5 minutes. Examinez le culot de centrifugation à l'objectif 10 x ou 40 x (comme pour un examen direct pour recherche des trypanosomes mobiles). Comme la durée de la réalisation du test est assez longue, les trypanosomes peuvent être immobiles. Il est donc préférable d'étaler et colorer au Giemsa le culot de centrifugation (comme pour une goutte épaisse) puis de l'examiner au microscope à immersion (objectif 50 x ou 100 x).

Mini colonne mAECT :

La technique mAECT (mini anion exchange centrifugation technique) est principalement utilisée comme instrument de recherche ou dans les grands centres de dépistage de la trypanosomiase. Elle est basée sur la capacité que possèdent les fragments de cellulose équilibrés par un tampon à un pH déterminé de présenter une charge électrostatique de surface. Lorsque le sang frais infecté s'écoule à travers une colonne de cellulose équilibrée, les cellules du sang sont retenues par la cellulose alors que les trypanosomes s'écoulent avec le tampon. Cette technique permet de séparer complètement les trypanosomes d'un volume de sang important. La centrifugation de l'éluât recueilli dans un tube spécial permet de concentrer les parasites au bout du tube qui peut être regardé directement au microscope (objectif 10x). Cette épreuve est très sensible, mais nécessite la préparation ou l'achat des colonnes (disponible pour approximativement 3 $ en 2005 auprès du Prof. J.-J. Muyembe, Institut National de Recherche Biomédicale (INRB), Avenue de la Démocratie. Kinshasa, R.D. Congo. E-mail : inrb.rdc@ic.cd). Tous les réactifs doivent être stériles pour éviter des erreurs de diagnostic en raison de la présence de micro-organismes mobiles qui peuvent, lorsqu'ils sont en grappes, être pris pour des trypanosomes.
Le seuil de positivité est inférieur à 100 trypanosomes par ml de sang.

EXAMENS PARASITOLOGIQUES DERMIQUE :

Skin snip (biopsie cutanée exsangue):

Cette technique de biopsie cutanée est utilisée pour la recherche des microfilaires dermiques (*Onchocerca volvulus* et éventuellement *Mansonella streptocerca*).

En cas de présence d'onchocercomes, le prélèvement de la biopsie dermique se fera à proximité de ce nodule, sauf si la localisation est contre indiquée (visage par exemple). En absence d'onchocercome, prélevez une biopsie au niveau du milieu de l'omoplate et une autre biopsie au niveau de la crête iliaque. Une troisième biopsie au niveau de la partie supérieure externe du mollet peut aussi être utilisée. Utilisez de préférence une pince à sclérotomie ou à défaut une aiguille et un scalpel.

Désinfectez l'endroit choisi. Soulevez la peau à l'aide de l'aiguille. Coupez d'un coup sec le morceau de peau soulevé par la pointe de l'aiguille, aussi près de l'aiguille que possible. Le prélèvement de 2 à 3 mm de large doit rester accroché à la pointe de l'aiguille. La biopsie doit être exsangue pour éviter une contamination par des parasites sanguins. Déposez la biopsie sur une lame dans une goutte d'eau physiologique et recouvrez d'une lamelle. Observez au microscope à l'objectif 10 x de temps en temps la préparation pour voir s'il n'y a pas de microfilaires qui sortent de la préparation (30 minutes à 1 heures. Pour éviter le dessèchement de la préparation, conservez-la en chambre humide). Dans le cadre d'un dépistage de masse où seul *Onchocerca volvulus* est recherché, il est possible de déposer chaque biopsie dans des tubes à centrifuger à fond conique contenant un peu d'eau physiologique. Après 30 minutes à 1 heure, enlevez les biopsies et centrifugez les tubes à 2.500 rpm (1.000 *g*) pendant 5 minutes. Eliminez les surnageants et observez les culots de centrifugation systématiquement, soit à frais à l'objectif 10 x, soit après coloration au Giemsa (comme pour une goutte épaisse).

Scarification profonde :

Cette technique de prélèvement de suc dermique est utilisée pour la recherche des microfilaires dermiques (*Onchocerca volvulus* et éventuellement *Mansonella streptocerca*). Elle permet de retrouver dans la même préparation des microfilaires sanguines mais aussi accidentellement des plasmodies, des trypanosomes ou des *Borrelia* spp. Cette méthode n'est pas recommandée pour la recherche de ces parasites.

Les sites de prélèvement sont les mêmes que ceux utilisés pour une « skin snip ». Après avoir désinfecté la peau, incisez la peau au scalpel sur 1 cm de long et 2 mm de profondeur. La profondeur est correcte, s'il n'y a qu'un peu de sang qui perle de l'incision. Incisez la peau une seconde et une troisième fois à quelques mm de la première incision. Si la profondeur de la première incision n'était pas assez importante (pas de sang perlant de la scarification), appuyez un peu plus fort sur le scalpel. Pressez la peau autour des scarifications pour faire sortir la lymphe contaminée de sang hors de la scarification. Recueillez ce mélange plusieurs fois sur une lame porte objet. Laissez sécher la préparation. Colorez cette préparation au Giemsa comme une goutte épaisse. Observez systématiquement la préparation à l'objectif 10 x pour rechercher les microfilaires.

Exsudat d'une lésion cutanée :

Cette technique permet la recherche des leishmanies. Certaines lésions cutanées sont humides. Cet exsudat peut contenir des parasites (*Leishmania* spp des formes cutanées ou muco-cutanées). Récupérez ce liquide à l'aide d'une pipette pasteur en plastique (ou d'un écouvillon). Etalez ce liquide sur une lame porte objet. Après séchage, colorez cette préparation au Giemsa comme une goutte épaisse. L'eau tamponnée utilisée pour diluer le Giemsa devrait optimalement être à un pH de 6,8. Observez la préparation au microscope sous immersion (objectif 50 x ou 100 x) pour rechercher les parasites éventuels.

EXAMENS PARASITOLOGIQUES D'UN SUC GANGLIONNAIRE :

Il s'agit d'une technique importante pour le diagnostic de la trypanosomiase du type *gambiense*. Elle peut aussi être utilisée avec moins de succès dans la trypanosomiase du type *rhodesiense*, et parfois pour le diagnostic de leishmaniose ou de toxoplasmose.

En zone endémique pour la trypanosomiase, cet examen devrait toujours être effectué et tous les individus aux ganglions lymphatiques hypertrophies (adénopathie) devraient être considérés comme des suspects (ceci est principalement vrai pour la forme *gambiense*). Le système lymphatique étant l'un des premiers à être envahi par le trypanosome, l'hypertrophie des ganglions lymphatiques peut même précéder la production d'anticorps. Les ganglions hypertrophiés forment une petite masse ronde élastique qui glisse sous la peau. Ils ne sont généralement pas indurés et résistent peu à la pression. Ils sont généralement indolores. Généralement, les ganglions lymphatiques hypertrophiés se trouvent dans la région du cou en particulier à la base de celui-ci.

La présence de ganglions lymphatiques hypertrophiés est un signe très suspect en zone endémique *gambiense*. Mais il peut être absent dans 20 à 40 % des cas. L'absence de ce signe pathologique ne signifie donc pas que le sujet est indemne de la maladie. On a aussi constaté que, dans de nombreux cas, l'examen de la lymphe est positif, alors que celui du sang reste négatif (l'inverse est aussi vrai). C'est la raison pour laquelle il est absolument nécessaire de palper les ganglions de tous les sujets au cours d'une enquête et de ponctionner tous les ganglions lymphatiques suspects.

Le ganglion est immobilisé entre pouce et index. Une aiguille est introduite perpendiculairement au centre du ganglion. Malaxez doucement le ganglion, tout tournant l'aiguille sur elle-même. Retirez l'aiguille du ganglion et adaptez-la sur une seringue (piston tiré à fond). Enfoncez doucement le piston de la seringue pour déposer le suc ganglionnaire sur une lame porte objet. Recouvrez d'une lamelle et observez immédiatement au microscope (objectif 40x) pour rechercher les trypanosomes mobiles. Les trypanosomes étant reconnus à leur mouvement, il faut procéder à l'examen microscopique avant qu'ils ne s'immobilisent, c'est-à-dire 10 ou 15 minutes au maximum après la prise de l'échantillon.

Le contenu de l'aiguille peut aussi être étalé en frottis mince sur une lame, coloré comme un frottis au Giemsa et observé au microscope à immersion (objectif 100 x ou 50 x). Cette procédure n'est cependant indiquée que dans le cadre de la recherche de toxoplasmes et de formes amastigotes de *Trypanosoma cruzi* ou de *Leishmania* spp.

EXAMENS PARASITOLOGIQUES D'UNE PONCTION DE MOELLE OSSEUSE :

La moelle osseuse est étalée sur une lame comme un frottis sanguin ou comme un tissu mou. Après séchage, et fixation au méthanol, la préparation est colorée comme un frottis sanguin, au Giemsa ou au May-Grünwald-Giemsa. Cette technique est principalement utilisée pour la recherche de *Leishmania* spp.

EXAMENS PARASITOLOGIQUES D'UN TISSU MOU (FOIE, RATE) :

La biopsie prise avec une pince est légèrement pressée à plusieurs endroits sur une lame prote-objet. On obtient ainsi des taches de cellules sur la lame Après séchage, et fixation au méthanol, la préparation est colorée comme un frottis sanguin, au Giemsa ou au May-Grünwald-Giemsa. Cette technique est principalement utilisée pour la recherche de *Leishmania* spp.

EXAMENS PARASITOLOGIQUES D'UN LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN :

Cette technique est utilisée en parasitologie pour la détermination du stade, le suivi (et parfois en cas de forte suspicion clinique pour le diagnostic) de la trypanosomiase africaine, mais aussi pour la recherche de cryptocoques, de toxoplasmes, de *Naegleria*, d'*Acanthamoeba* et dans le cadre des méningites éosinophiles provoquées par *Angiostrongylus*. (cf. aussi notes de bactériologie pour les méningites bactériennes).
Le liquide céphalo-rachidien doit être analysé le plus vite possible après prélèvement, en raison de la lyse rapide des éléments cellulaires (les trypanosomes par exemple lysent dès 10 minutes après prélèvement).

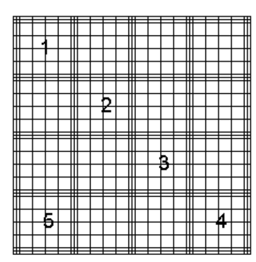
Dans le cadre de la trypanosomiase, la détermination du stade de la maladie est nécessaire pour choisir le traitement adapté avec le moins de risque pour le patient. Le stade II se caractérise par une invasion parasitaire du système nerveux central. En supposant que tout changement observé au niveau du LCR reflète l'infestation ou l'inflammation, différents paramètres peuvent être analysés (numération cellulaires, présence de parasites, concentration en protéines ou en gamma globulines,…). La définition d'un LCR normal est la suivante : absence de parasite, une cellulorachie inférieure ou égale à 5 cellules par µl[6] et une faible concentration protéique (les valeurs de protéinorachie varient en fonction de la technique d'analyse étudiée). Comme il n'y a pas de relation étroite entre ces paramètres, l'O.M.S. recommande des tous les analyser simultanément.

Numération des leucocytes :

Cette méthode est utile tant en parasitologie qu'en bactériologie (cf. notes de bactériologie pour d'autres usages et notes d'hématologie pour le principe général). En raison du faible nombre de cellules présentes dans un LCR normal, on utilise une cellule de numération à grand volume (Fuchs Rosenthal, Malassez, Neubauer, …). Il peut être utile d'utiliser des cellules de numération à usage unique du type Kova (le volume est plus juste, mais pour un coût non négligeable). Nettoyez et montez soigneusement la cellule (absence de poussière ou de graisse, usage de lamelles spéciales pour cellules de numération, présence d'anneaux de Newton). La numération doit se faire sur un liquide fraîchement prélevé et bien évidemment avant toute centrifugation. Homogénéisez soigneusement le LCR avant de remplir la chambre sans déborder. Comptez les cellules présentes sous microscope (objectif 10 x, oculaire 10 x ou 15 x) en fonction de la cellule de numération utilisée. Si nécessaire, confirmez à l'objectif 40 x le type de cellules présentes (globules blancs ou rouges). Si le nombre de cellules comptées est inférieur à 20 par µl de LCR, il est recommandé de répéter toute la procédure et de calculer une valeur moyenne sur deux mesures.

[6] Notons que la cellulorachie normale peut aller jusqu'à 30 cellules par µl de LCR pour des enfants de moins d'un an, jusqu'à 20 cellules pour des enfants de 1 à 4 ans et jusqu'à 10 cellules pour des enfants de plus de 5 ans et ce jusqu'à la puberté.

Cellule de numération de Fuchs Rosenthal



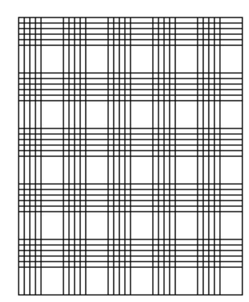
Surface : 4 mm x 4 mm.

Profondeur : 0.2 mm.

Volume total : 3,2 mm³ ou µl.

Pour un LCR non dilué, le nombre de cellules comptées dans les carrés moyens 1 à 5 représente le nombre de cellules par µl de LCR.

Cellule de numération de Mallassez



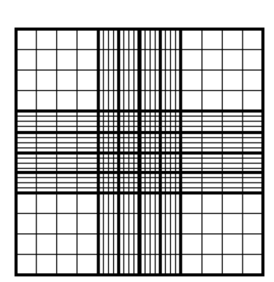
Surface : 2 mm x 2,5 mm.

Profondeur : 0.2 mm.

Volume total : 1 mm³ ou µl.

Pour un LCR non dilué, le nombre de cellules comptées dans toute la cellule représente le nombre de cellules par µl de LCR.

Cellule de numération de Neubauer (Double improved) :



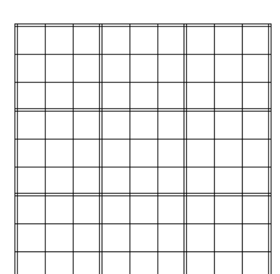
Surface : 3 mm x 3 mm.

Profondeur : 0.1 mm.

Volume total : 0.9 mm³ ou µl.

Pour un LCR non dilué, compter toutes les cellules présentes dans toute la chambre, puis multiplier par 10/9 pour obtenir le nombre de cellules par µl de LCR.

Cellule de numération à usage unique Kova :



La chambre est constituée de 1 grand carré, divisé en 9 carrés moyens et en 81 petits carrés.

Volume total : 1µl.

Volume pour 1 petit carré : 0,0123 µl.

Pour un LCR non dilué, le nombre de cellules comptées dans toute la chambre représente le nombre de cellules par µl de LCR.

Examen direct :

Rarement, des parasites mobiles peuvent être retrouvés à frais, lors de la numération des leucocytes du L.C.R. Il peut s'agir de trypanosomes, indiquant alors un stade II de la trypanosomiase, des trophozoïtes amiboïdes de *Naegleria* ou d'*Acanthamoeba* spp. (qu'il ne faut pas confondre avec des macrophages, mobiles également par leurs pseudopodes). On peut aussi retrouver exceptionnellement des kystes *d'Acanthamoeba* spp.

Examen après centrifugation :

Centrifugez quelques millilitres de LCR pendant 10 minutes à 3.000 rpm (1.000 *g*) dans un tube à centrifuger à fond conique. Décantez délicatement le surnageant, sans toucher le sédiment (invisible si la cellulorachie est basse). Le surnageant peut être utilisé pour la détermination de paramètres biochimiques (glycorachie, protéinorachie, etc.). Le culot de centrifugation, remis en suspension dans la dernière goutte du surnageant est déposé sur une lame, recouvert d'une lamelle et est examiné complètement et systématiquement à l'objectif 10 x, oculaires 10 x ou 15 x pour rechercher des agents pathogènes mobiles (confirmation à l'objectif 40 x). Une coloration au Gram, au bleu de méthylène, à l'encre de Chine ou au Giemsa du sédiment peuvent aussi être utiles pour détecter d'autres agents pathogènes ou pour identifier la nature des cellules présentes [éosinophiles, cellules de Mott, …] (*cf.* notes de bactériologie).

Examen après double centrifugation :

La sensibilité de la recherche des trypanosomes dans le LCR peut être améliorée par une double centrifugation. Centrifugez quelques millilitres de LCR pendant 10 minutes à 3.000 rpm (1.000 *g*) dans un tube à centrifuger à fond conique. Décantez délicatement le surnageant, sans toucher le sédiment (invisible si la cellulorachie est basse). Le surnageant peut être utilisé pour la détermination de paramètres biochimiques (glycorachie, protéinorachie, etc.). Le culot de centrifugation, remis en suspension dans la dernière goutte du surnageant est aspiré dans un ou deux tubes capillaires à hématocrite. Scellez à la flamme l'extrémité qui n'est pas entré en contact avec le LCR et centrifugez les micro-capillaires (Centrifugation de 5 minutes à 12.000 rpm ou 15.000 *g*). L'extrémité inférieure des capillaires bouchés est examinée sous microscope comme dans la technique de Woo.

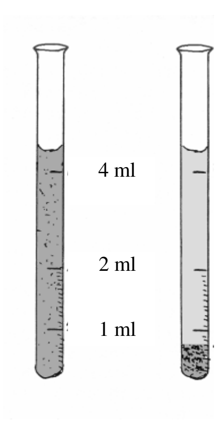
Evaluation des protéines totales :

Le dosage des protéines du LCR peut se faire par plusieurs techniques. Ces techniques sont malheureusement peu standardisées et peu comparables : Toutes les protéines éventuellement présentes ne réagissent pas de la même manière avec les réactifs des différentes méthodes. (Un LCR normal contient environ 30 % IgG et 70 % d'albumine, qui réagissent toutes deux différemment). Avec comme résultat que des valeurs différentes peuvent être obtenues en fonction de la méthode utilisée et du type de protéines utilisées comme calibrateur. Lorsqu'une méthode est choisie, il faudrait fixer la valeur seuil en testant une série de LCR normaux. A titre d'exemple, voici quelques valeurs seuils indicatives pour différentes méthodes (variable en fonction du type de protéines utilisées comme calibrateur) :

Méthode	Valeur seuil (en g/l)
Précipitation au TCA 5 %	0,25
Précipitation à l'acide sulfosalicylique 3 %	0,45
Colorimétrie au bleu de Coomasie brillant	0,37
Colorimétrie au BCA	Donnée non disponible pour les LCR

Evaluation des protéines par la technique de Sicard et Cantaloube :

☠ **ATTENTION :** L'**Acide trichloroacétique** est extrêmement corrosif. Manipulez ce produit avec grande précaution.



Une méthode assez simple est la technique de **Sicard et Cantaloube**. Il s'agit d'un test de floculation : les protéines coagulent sous l'effet combiné de la chaleur et du milieu acide en flocons blanchâtre qui sédimentent au fond du tube. La hauteur du sédiment est proportionnelle à la quantité de protéines (albumine) présente. Les tubes de Sicard et Cantaloube sont malheureusement difficiles à trouver.

Versez dans le tube de Sicard 4 ml du LCR à examiner (surnageant après centrifugation du LCR). Chauffez légèrement le tube jusqu'à ± 50°C. Ajoutez immédiatement 12 gouttes d'acides trichloroacétique à 30 % (p/v). Fermez le tube et retournez-le 3x pour homogénéiser le contenu (**ne secouez jamais le tube**). Laissez reposer le tube en position rigoureusement verticale pendant au moins 5 heures (on peu différer la lecture jusqu'à 24 heures sans grande modification du résultat). La hauteur du culot trouble indiquera la quantité de protéines présentes. Par cette méthode, Un LCR normal ne doit pas dépasser 0,40 g/l.

Evaluation des globulines par la réaction de Pandy :

☠ **ATTENTION :** Le **Phénol** est extrêmement corrosif et toxique. Manipulez ce produit avec grande précaution.

Ce test simple, basé sur la précipitation des globulines en présence de phénol, permet d'évaluer la quantité de globulines présentes. En raison de son seuil de positivité, ce test n'est utilisable que sur du L.C.R. Mesurez dans un petit tube à essais 1 ml de réactif de Pandy puis placez le tube devant un morceau de carton noir. Ajoutez goutte-à-goutte 3 gouttes du surnageant du L.C.R. centrifugé et examinez le tube après chaque goutte. Lorsqu'un précipité blanc se forme lorsque la goutte de L.C.R entre en contact avec le réactif, le test est positif (ce qui indique la présence d'une quantité importante de globulines dans le L.C.R.).
Le test est négatif si aucun précipité blanc ne se forme, si le mélange reste limpide ou si un léger trouble apparaît mais se re-dissout. Ce test est positif en cas de trypanosomiase (stade 2), de méningite bactérienne, fongique (cryptococcose) ou parasitaire (amibes). Il est également positif en cas de malaria cérébrale, de tumeur cérébrale, de blessures cérébrales, …

FORMOL GEL TEST :

☠ **ATTENTION** : Le **Formol** est une substance toxique par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Les vapeurs de Formol sont irritantes pour les yeux et les muqueuses. Manipulez ce produit fenêtres ouvertes (ou sous une hotte chimique) en utilisant des gants.

Ce test simple, peu coûteux mais non spécifique indique une augmentation des gammaglobulines dans le sérum. Il peut être utilisé comme test présomptif d'une leishmaniose viscérale (ou comme test de dépistage sur des donneurs de sang ?). Sa sensibilité serait de l'ordre de 90 %. Il deviendrait positif dans les 3 mois qui suivent l'infestation pour se négativer 6 mois après un traitement réussi. Des résultats plus variables seraient cependant obtenus pour des patients co-infectés par le VIH. On peut aussi observer une réaction positive dans certaines infections par l'hépatite B et dans certains cancers (myélomes, macroglobulinémie de Waldenström,…). La malaria, la trypanosomiase, la lèpre, etc., sont aussi associées à une augmentation des globulines, mais généralement sans atteindre le niveau nécessaire pour positiver le test.

Prélevez 2 à 5 ml de sang et laissez-le se coaguler. Après rétraction du caillot (ce qui prend habituellement de 30 à 60 minutes dans un tube en verre), centrifugez (10 minutes, 4.000 g) le tube pour obtenir un sérum clair. Mettez 1 ml de sérum dans un petit tube **en verre.** Ajoutez 2 gouttes de formol (formaldéhyde à 37 % p/v) et mélangez doucement. Observez de temps en temps le tube durant 2 heures.

Le test est positif si le sérum se gélifie et/ou blanchi. La plupart des tests positifs sont obtenus en moins de 20 minutes (souvent moins de 5 minutes). En tout début d'infestation la gélification peut cependant nécessiter jusqu'à 2 heures. Le test est négatif si ni gélification ni blanchiment ne se produit dans les 2 heures.

PREPARATION DES REACTIFS ET DES COLORANTS

1. ACIDE ACETIQUE A 5 % (v/v) *(pour éclaircissement des proglottis)* :

☠ **ATTENTION : L'Acide Acétique Glacial** est inflammable, nocif et extrêmement corrosif. Il est aussi irritant pour les yeux. Ce produit est à manipuler avec une extrême prudence, loin d'une flamme et fenêtres ouvertes (ou sous une hotte chimique).

Eau Distillée...950 ml
Acide Acétique Glacial ($C_2H_4O_2$)...50 ml

Ne versez jamais d'eau dans l'Acide Acétique Glacial. L'addition d'une faible quantité d'eau dans un acide produit suffisamment de chaleur pour faire exploser la bouteille. Mesurez 950 ml d'eau distillée dans un cylindre de 1.000 ml et versez-la dans un flacon de 1.000 ml. Mesurez 50 ml d'Acide Acétique Glacial dans un cylindre de 50ml. Ajoutez lentement les 50 ml d'Acide Acétique Glacial dans le flacon. Le contenu s'échauffera.

Ce réactif peut être remplacé par du vinaigre blanc de cuisine.

CONSERVATION : Au moins 1 an dans un flacon brun.

2. ACIDE PICRIQUE *(pour coloration à l'hématoxyline ferrique)* :

☠ **ATTENTION : L'Acide picrique** est inflammable et explosif à sec. Evitez les chocs, les frottements et la dispersion de poussières. Ce produit est à manipuler avec une extrême prudence, loin d'une flamme

Solution stock d'acide picrique:

Acide picrique($C_6H_3N_3O_7$)... 13 g
Eau distillée.. 1.000 ml

Dissolvez les 13 grammes d'acide picrique (VWR 1.00621) dans 1.000 ml d'eau distillée dans un bain-marie à 60℃.

CONSERVATION : 1 an dans un flacon brun hermétiquement bouché.

Solution de travail d'acide picrique :

Solution stock d'acide picrique……………….............. 80 ml
Eau Distillée... 80 ml

Ne versez jamais d'eau dans de l'Acide Picrique. L'addition d'une faible quantité d'eau dans un acide produit suffisamment de chaleur pour faire exploser la bouteille. Mélangez une même quantité d'eau distillée et de la solution stock d'acide picrique.

CONSERVATION : 1 semaine (et/ou approximativement 200 préparations).

3. ACIDE TRICHLOROACETIQUE A 30 % (p/v) *(pour évaluation des protéines du LCR)* :

☠ **ATTENTION : L'Acide Trichloroacétique** est extrêmement corrosif et provoque de graves brûlures. Evitez tout contact avec la peau et les muqueuses. Ce produit est à manipuler avec une extrême prudence, fenêtres ouvertes (ou sous une hotte chimique). Utilisez des gants.

Acide Trichloroacétique ($C_2HCl_3O_2$)..30 g
Eau Distillée...100 ml

Ne versez jamais d'eau dans l'Acide Trichloroacétique. L'addition d'une faible quantité d'eau dans un acide produit suffisamment de chaleur pour faire exploser la bouteille.

CONSERVATION : Quelques semaines.

4. ALBUMINE DE MAYER *(pour coloration à l'hématoxyline ferrique)* :

Blanc d'œufs frais.. 10 ml
Glycérine à 87 %.......................………………............... 10 ml

Mélangez **doucement** une même quantité de blanc d'œufs et de glycérine (VWR 1.04094) jusqu'à apparition d'un « col » de mousse blanchâtre. Attendez quelques minutes pour obtenir une solidification. Utilisez uniquement la couche inférieure.

CONSERVATION : 3 mois **à 4°C** dans un flacon blanc hermétiquement bouché .

5. ALCOOL ACIDE DE ZIEHL à 3 %(v/v) *(pour coloration de Ziehl Neelsen et à l' hématoxyline ferrique)* :

☠ **ATTENTION : L'éthanol** est inflammable, manipulez ce produit loin d'une flamme. **L'Acide Chlorhydrique** est extrêmement corrosif. Les vapeurs d'Acide Chlorhydrique sont toxiques. Ce produit est à manipuler avec une extrême prudence fenêtres ouvertes (ou sous une hotte chimique).

Ethanol 96 % (C_2H_6O).. 970 ml
Acide Chlorhydrique concentré (HCl 37 %)..................... 30 ml

Dans un flacon d'un litre, versez 970 ml d'Ethanol à 96 %. Ajoutez **lentement** 30 ml d'Acide Chlorhydrique en le laissant couler le long de la paroi. Mélangez. Le contenu s'échauffera. Les réactifs de bases peuvent être de qualité technique.

CONSERVATION : Quelques années dans un flacon brun hermétiquement bouché.

6. ALCOOL AMMONIACAL *(pour coloration à l'hématoxyline ferrique)* :

☠ **ATTENTION : L'éthanol** est inflammable, manipulez ce produit loin d'une flamme. **L'ammoniaque** est un produit corrosif. Les vapeurs d'ammoniaque sont irritantes. Ces produits sont à manipuler avec une extrême prudence fenêtres ouvertes (ou sous une hotte chimique).

Ethanol 70 % (C_2H_6O).. 250 ml
Ammoniaque à 25 % (NH_3)…....................................... 3 ml

Mélangez 250 ml d'éthanol à 70 % et 3 ml d'ammoniaque à 25 % (VWR 1.05432).

CONSERVATION : A utiliser dans la semaine.

7. ***BLEU DE METHYLENE*** *(pour coloration de Ziehl-Neelsen)* **:**

☠ **ATTENTION : L'Ethanol** est inflammable, manipulez ce produit loin d'une flamme.

Bleu de Méthylène, solution mère saturée :

Bleu de Méthylène..	25 g
Ethanol 96 % (C_2H_6O)....................................	250 ml

Le contenu d'un flacon de 25 g de Bleu de Méthylène est introduit dans une bouteille brune de 250 ml qui est ensuite remplie d'Ethanol à 96 %. La bouteille est vigoureusement agitée à trois reprises dans la même journée. Laissez déposer. La solution est prête à l'emploi dès le lendemain. On peut ajouter de l'Ethanol tant qu'il reste un dépôt de Bleu de Méthylène.
N.B. Le Bleu de Méthylène peut être dissous dans du Méthanol à la place de l'Ethanol. Il ne faut pas laver ou rincer les flacons contenant des solutions saturées. Il faut seulement ajouter de temps en temps un peu de colorant et un peu d'alcool. Tant qu'il reste un peu de poudre au fond du flacon, on peut considérer que le surnageant est saturé.

CONSERVATION : Quelques années dans un flacon brun hermétiquement bouché.

Bleu de méthylène, solution de travail :

Solution saturée de Bleu de Méthylène filtrée............	100 ml
Eau Distillée..	900 ml

CONSERVATION : Au moins 1 an dans un flacon brun hermétiquement bouché.
Filtrer avant emploi.

8. ***BLEU DE TOLUIDINE 0*** *(pour coloration au bleu de toluidine O)* **:**

☠ **ATTENTION : L'Ethanol** est inflammable, manipulez ce produit loin d'une flamme. Le **Bleu de Toluidine O** est une substance toxique par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Les vapeurs sont irritantes pour les yeux et les muqueuses. Manipulez ce produit fenêtres ouvertes (ou sous une hotte chimique) en utilisant des gants. **L'Acide Chlorhydrique** est extrêmement corrosif. Les vapeurs d'Acide Chlorhydrique sont toxiques. Ce produit est à manipuler avec une extrême prudence fenêtres ouvertes (ou sous une hotte chimique).

Bleu de Toluidine O	320 mg
Eau distillée...	60 ml
Acide Chlorhydrique concentré (HCl).................	2 ml
Ethanol absolu (C_2H_6O).....................................	140 ml

Ne versez jamais d'Eau dans l'Acide Chlorhydrique. L'addition d'une faible quantité d'eau dans un acide produit suffisamment de chaleur pour faire exploser la bouteille**.** Dissolvez sous agitation magnétique 320 mg de bleu de toluidine O [exemple Sigma T0394] dans 60 ml d'eau distillée. Ajoutez sous agitation 2 ml d'acide chlorhydrique concentré, puis **lentement** 140 ml d'éthanol absolu.

CONSERVATION : Quelques mois dans un flacon brun hermétiquement bouché.

9. EAU FORMOLEE A 2 % (v/v) *(pour la méthode de Knott)* :

☠ **ATTENTION** : Le **formol** est une substance toxique par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Les vapeurs de Formol sont irritantes pour les yeux et les muqueuses. Manipulez ce produit fenêtres ouvertes (ou sous une hotte chimique) en utilisant des gants.

Formol à 37 % (Formaldéhyde) (CH_2O)... 2 ml
Eau distillée ………... 98 ml

CONSERVATION : au moins 2 ans dans un flacon brun.

10. EAU PHYSIOLOGIQUE NaCl à 0,85 % (p/v) *(pour examens à frais)* :

Chlorure de Sodium (NaCl)...8,5 g
Eau Distillée..jusqu'à 1000 ml

Utilisez un ballon jaugé pour dissoudre le réactif et mesurer le volume d'eau distillée.

CONSERVATION : Quelques semaines à température ambiante. Cette solution doit être vérifiée régulièrement pour s'assurer qu'aucune prolifération microbienne ou fongique ne se soit installée. Remplacez la solution si elle est trouble après agitation.

11. EAU PHYSIOLOGIQUE FORMOLEE A 10 % (v/v) *(pour conservation des selles)* :

☠ **ATTENTION** : Le **formol** est une substance toxique par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Les vapeurs de Formol sont irritantes pour les yeux et les muqueuses. Manipulez ce produit fenêtres ouvertes (ou sous une hotte chimique) en utilisant des gants.

Formol à 37 % (Formaldéhyde) (CH_2O)...10 ml
Eau Physiologique ………...90 ml

CONSERVATION : Au moins 2 ans dans un flacon brun.

12. EAU TAMPONNEE *(pour coloration de Giemsa)* :

PREPARATION A BASE DE POUDRE (selon Sorensen) :

Solution stock A :

Phosphate Monopotassique anhydre (KH_2PO_4)………………….. 9,1 g
Eau distillée.. jusqu'à 1.000 ml

Utilisez un ballon jaugé pour dissoudre le réactif et mesurer le volume d'eau distillée.

CONSERVATION : Plusieurs semaines au réfrigérateur dans un flacon en verre brun. Cette solution doit être vérifiée régulièrement pour s'assurer qu'aucune prolifération microbienne ou fongique ne se soit installée. Remplacez la solution si elle est légèrement trouble après agitation.

Solution stock B :

Phosphate Disodique dihydrate ($Na_2HPO_4.2H_2O$)……………. 11,9 g
Eau distillée.. jusqu'à 1.000 ml

Utilisez un ballon jaugé pour dissoudre le réactif et mesurer le volume d'eau distillée.

CONSERVATION : Plusieurs mois au réfrigérateur dans un flacon en verre brun. Ce réactif doit être vérifié régulièrement pour s'assurer qu'aucune prolifération microbienne ou fongique ne se soit installée. Remplacez la solution si elle est légèrement trouble après agitation.

Solutions de travail :

Utilisation	pH	Volume solution A (en ml)	Volume solution B (en ml)	Volume eau distillée (en ml)
Hématologie	**6,4**	74,0	26,0	900
Hématologie	**6,6**	64,0	36,0	900
Hématologie et leishmanioses	**6,8**	50,0	50,0	900
Paludisme	**7,0**	39,0	61,0	900
Paludisme	**7,2**	28,0	72,0	900
	7,4	19,2	80,8	900
Trypanosomiases	**7,6**	13,0	87,0	900
	7,8	8,5	91,5	900
Paludisme Filarioses	**8,0**	5,5	94,5	900

CONSERVATION DE LA SOLUTION DE TRAVAIL : Plusieurs semaines dans un flacon brun à température ambiante. Ce réactif doit être vérifié régulièrement pour s'assurer qu'aucune prolifération microbienne ou fongique ne se soit installée. Remplacez la solution si elle est légèrement trouble après agitation.

13.EAU TAMPONNEE *(pour coloration de Giemsa)* :

PREPARATION A BASE DE COMPRIMES :

Solution stock :

Comprimés VWR (MERCK) N° 9468 pour tampon pH = 7,2….............1 comprimé
Eau distillée...jusqu'à 1.000 ml

Utilisez un agitateur magnétique et une "puce" pour dissoudre le comprimé dans un jaugé de 1000 ml.

Solution de travail (dilution maximale à tester en fonction de la qualité de l'eau) :

Solution stock..200 ml
Eau distillée...jusqu'à 800 ml

Le fabricant recommande de dissoudre un comprimé par litre d'eau (distillée ou filtrée). Il est cependant possible, en fonction de la qualité de l'eau utilisée, d'augmenter la dilution jusqu'à un volume final de 10 litres. Ceci doit être testé sur des lames et évalué en fonction de la qualité de la coloration obtenue.

CONSERVATION : Plusieurs semaines dans un flacon brun à température ambiante. Ce réactif doit être vérifié régulièrement pour s'assurer qu'aucune prolifération microbienne ou fongique ne se soit installée. Remplacez la solution si elle est légèrement trouble après agitation.

14. ETHANOL A 70 % (v/v) (antiseptique et coloration à l'hématoxyline ferrique) :

☠ **ATTENTION** : L'Ethanol est inflammable, manipuler ce produit loin d'une flamme.

Ethanol à 95 % (C_2H_6O)..730 ml
Eau Distillée...270 ml

CONSERVATION : Au moins 1 an dans un flacon brun hermétiquement bouché.

15. FUCHSINE DE ZIEHL (pour coloration de Ziehl Neelsen à chaud et à l'hématoxyline ferrique) :

☠ **ATTENTION :** Le **Phénol** est extrêmement corrosif et toxique. Manipulez ce produit avec grande précaution.

Solution mère de Fuchsine saturée :

Fuchsine Basique.................................... 25 g
Ethanol à 96 % (C_2H_6O)........................ 250 ml

Le contenu d'un flacon de 25 g de Fuchsine Basique (exemple Fluka 602) est introduit dans une bouteille brune de 250 ml qui est ensuite remplie d'éthanol à 96 %. La bouteille est vigoureusement agitée à trois reprises dans la même journée. Laissez déposer. La solution est prête à l'emploi dès le lendemain. De meilleurs résultats sont obtenus en utilisant de la néo fuchsine (exemple new fuchsin Merck 1.04041.0025), mais pour un prix beaucoup plus élevé.
P.S. La Fuchsine Basique peut être dissoute dans du Méthanol à la place de l'Ethanol. Il ne faut pas laver ou rincer les flacons contenant des solutions saturées. Il faut seulement ajouter de temps en temps un peu de colorant et un peu d'alcool. Tant qu'il reste un peu de poudre au fond du flacon, on peut considérer que le surnageant est saturé.

CONSERVATION : Quelques années dans un flacon brun hermétiquement bouché.

Solution mère aqueuse de Phénol à 5 % (v/v) :

Phénol Cristallisé fondu (C_6H_6O)……..……... 50 ml
Eau Distillée.. 950 ml

L'eau doit être de l'eau distillée ou filtrée. L'eau de robinet contient souvent des mycobactéries saprophytes qui ne se distinguent pas microscopiquement des mycobactéries pathogènes !
Le Phénol Cristallisé est normalement incolore. Il est périmé, et ne doit pas être utilisé s'il est de couleur rose violet.
La solution aqueuse de Phénol à 5 % est préparée en ajoutant 50 ml de Phénol Cristallisé fondu à 45 °C (bain-marie ou soleil, ou flacon de 50 g de phénol [exemple : Fluka 77610]) à 950 ml d'eau distillée. Le cylindre qui sert à mesurer le volume de Phénol doit être préchauffé dans le bain-marie ou au soleil (sinon, le Phénol cristallisera immédiatement dans le cylindre).

CONSERVATION : Quelques mois dans un flacon hermétiquement bouché.

.

Solution de travail :

Solution saturée de Fuchsine Basique, filtrée............ 100 ml
Solution aqueuse de Phénol à 5 %............................ 900 ml

CONSERVATION : Au moins 2 ans dans un flacon en verre brun.
Filtrez avant emploi

16.GLYCEROL-VERT DE MALACHITE *(pour Kato-Katz)* :

Solution aqueuse de Bleu de Méthylène (ou de Vert de Malachite) à 3 % (p /v) :

[Ce réactif intervient aussi dans la préparation du liquide de Türck] :

Vert de Malachite (ou Bleu de Méthylène) ……………………………………………3 g
Eau Distillée...100 ml

Pilez de la poudre de Vert de Malachite (ou de Bleu de Méthylène) dans un mortier propre et sec. Pesez 3 g de poudre. Transvasez dans un flacon brun et ajoutez 100 ml d'eau distillée. Mélangez jusqu'à dissolution.

CONSERVATION : Au moins 1 an dans un flacon brun hermétiquement bouché.
Filtrez avant emploi.

Solution de travail Glycérol- Bleu de Méthylène (ou Vert de Malachite) :

Vert de Malachite (ou Bleu de Méthylène) à 3% en solution aqueuse………. 1 ml
Glycérol ($C_3H_8O_3$)……………………………...100 ml
Eau Distillée...100 ml

Versez 1 ml de solution aqueuse à 3 % de Vert de Malachite (ou de Bleu de Méthylène) dans un flacon brun. Ajoutez 100 ml de glycérol et 100 ml d'eau distillée. Mélangez soigneusement avant usage.

CONSERVATION : Au moins 1 an à température ambiante dans un flacon en verre brun.

17.HYDROXYDE DE POTASSIUM A 1 % (p/v) :

☠ **ATTENTION : L'Hydroxyde de Potassium** est extrêmement corrosif. Manipulez ce produit avec grande précaution.

Hydroxyde de Potassium en granules (KOH)..1 g
Eau Distillée...100 ml

La mise en solution de l'hydroxyde de potassium est exothermique.

CONSERVATION : 2 années à température ambiante dans un flacon en verre brun.

18.HYDROXYDE DE SODIUM A 1 % (p/v) :

☠ **ATTENTION** : L'Hydroxyde de Sodium est extrêmement corrosif. Manipulez ce produit avec grande précaution.

Hydroxyde de Sodium en granules (NaOH)..1 g
Eau Distillée...100 ml

La mise en solution de l'hydroxyde de sodium est exothermique.

CONSERVATION : 2 années à température ambiante dans un flacon en verre brun.

19. ***LUGOL FORT selon D'Antoni*** *(pour examens des selles)* **:**

☠ **ATTENTION : L'Iode Sublimée** est nocive par inhalation ou contact.

Iodure de Potassium (KI)..7,5 g
Iode en Cristaux ou Iode Sublimée (I_2)...5 g
Eau distillée...500 ml

Dissolvez l'Iodure de Potassium dans 30 ml d'eau distillée. Ajoutez l'Iode en Cristaux (préalablement pulvérisé dans un mortier). Mélangez jusqu'à dissolution. Ajoutez le reste de l'Eau Distillée (470 ml). N.B. : L'iode ne se dissout pas dans l'eau et peu dans l'iodure de potassium. La dissolution de l'iode est d'autant plus difficile qu'elle contient des impuretés. Utilisez donc toujours de l'iode bi sublimée. Conservez en bouteille brune à l'abri de la lumière.

CONSERVATION : non filtré : 3 mois dans un flacon en verre brun. Le Lugol doit avoir une coloration brun rouge. S'il est jaune, il ne fonctionnera plus et doit être jeté. **Filtrez avant emploi. L'iode, produit corrosif et nocif s'évapore facilement de cette solution.**

20. ***PEPSINE 2 % en HCl 0.5 %*** *(recherche de Trichines)* **:**

☠ **ATTENTION : L'Acide Chlorhydrique** est extrêmement corrosif. Les vapeurs d'Acide Chlorhydrique sont toxiques. Ce produit est à manipuler avec une extrême prudence fenêtres ouvertes (ou sous une hotte chimique).

Eau distillée...1.000 ml
Acide Chlorhydrique concentré (HCl 37 %).. 5 ml
Pepsine.. 20 g
Chlorure de Sodium (NaCl)... 8,5 g

Ne versez jamais d'Eau dans l'Acide Chlorhydrique. L'addition d'une faible quantité d'eau dans un acide produit suffisamment de chaleur pour faire exploser la bouteille**.** Dans un flacon d'un litre, versez 1.000 ml d'eau distillée. Ajoutez lentement 5 ml d'Acide Chlorhydrique en le laissant couler le long de la paroi. Mélangez. Le contenu s'échauffera. Ajoutez la pepsine et le chlorure de sodium. Mélangez jusqu'à dissolution.

CONSERVATION : Au moins un an dans un flacon brun hermétiquement bouché.

21. ***REACTIF DE PANDY*** *(pour mise en évidence des globulines dans un L.C.R.)* **:**

☠ **ATTENTION :** Le **Phénol** est extrêmement corrosif et toxique. Manipulez ce produit avec grande précaution. Le phénol est aussi extrêmement hygroscopique. Refermez hermétiquement le pot.

Phénol (C_6H_6O)... 50 g
Eau distillée.. 500 ml

Le Phénol Cristallisé est normalement incolore. Il est périmé, et ne doit plus être utilisé s'il est de couleur rose violet. Il existe des conditionnements de 50 g [exemple : Fluka 77610], permettant d'éviter le pessage.

Le réactif de Pandy est une solution saturée de phénol. Mettez le Phénol dans un flacon brun de 1000 ml. Ajoutez l'eau distillée. Agitez énergiquement. Laissez reposer 1 jour. Vérifiez qu'il reste bien du Phénol non dissous. Si oui, filtrez et conservez le réactif dans un flacon brun. Si tout le Phénol est dissous, ajoutez 10 g de Phénol et attendez encore 1 jour avant de filtrer le réactif.

CONSERVATION : Quelques années dans un flacon brun hermétiquement bouché**.**

22.REACTIF DE SULFATATION *(pour coloration au bleu de toluidine O)* :

☠ **ATTENTION :** L'**éther Diéthylique** est une substance extrêmement inflammable qui s'enflamme et explose rapidement au contact d'une flamme ou d'une étincelle. Manipulez ce produit loin d'une flamme. Conservez les bidons ou les flacons entamés sur une étagère (pour que les vapeurs se dispersent) dans la partie la plus fraîche du laboratoire. Comme l'éther est très volatile, les flacons doivent être hermétiquement bouchés. Ne mettez pas un flacon d'éther au réfrigérateur : les vapeurs s'accumulent dans celui-ci, même si le flacon est hermétiquement fermé, et peuvent exploser lors de l'ouverture de la porte. Ne rangez pas des flacons entamés dans une armoire. N'ayez que des petites quantités d'éther dans le laboratoire. **L'Acide Sulfurique** est extrêmement corrosif. Les vapeurs d'Acide Sulfurique sont toxiques. Ce produit est à manipuler avec une extrême prudence fenêtres ouvertes (ou sous une hotte chimique).

Ether Diéthylique ($C_4H_{10}O$).. +/- 140 ml
Acide Sulfurique concentré... 100 ml

Dans une ampoule à décanter, mélangez en agitant fortement 140 ml d'éther di-éthylique avec 40 ml d'eau distillée. Attendez que les deux couches se séparent et deviennent transparentes. Eliminez la couche inférieure (aqueuse) ainsi que quelques ml de la couche supérieure (éther-hydrate) afin de rincer la tubulure. Versez le reste de l'éther-hydrate dans un Erlenmayer placé **dans de la glace**. Ajoutez alors **goutte à goutte** 100 ml d'acide sulfurique concentré tout en agitant l'Erlenmayer.

CONSERVATION : 1 mois dans un flacon brun hermétiquement bouché. **N'utilisez plus le réactif si celui-ci comporte deux phases.**

23.SAF *(**S**odium-acetate/**A**cetic acid/**F**ormalin pour fixation des parasites dans les selles)* :

☠ **ATTENTION :** L'**Acide Acétique Glacial** est inflammable, nocif et extrêmement corrosif. Il est aussi irritant pour les yeux. Manipulez ce produit avec précaution, loin d'une flamme, fenêtres ouvertes (ou sous hotte chimique). Le **Formol (Formaldéhyde)** est une substance toxique par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Les vapeurs de Formol sont irritantes pour les yeux et les muqueuses. Manipulez ce produit fenêtres ouvertes (ou sous une hotte chimique) en utilisant des gants.

Sodium acétate anhydre ($C_2H_3NaO_2$)…………………………………....15 g
Eau distillée………………………...920 ml
Acide acétique glacial (CH_3COOH) .... 20 ml
Formol à 37 % (Formaldéhyde) (CH_2O) .... 40 ml

Ne versez jamais d'Eau dans l'Acide Acétique Glacial. L'addition d'une faible quantité d'eau dans un acide produit suffisamment de chaleur pour faire exploser la bouteille**.**

Des pots pour échantillons de selles sont remplis de 10 ml de SAF. Le patient doit y mettre +/- 2.5 ml de selles (le plus rapidement possible après émission, en mélangeant bien les selles et le SAF durant au moins 20 secondes). Prévoyez sur le pot à échantillon une étiquette de danger et une indication du niveau de liquide final [selles + SAF].

CONSERVATION : Au moins 1 an dans un flacon brun hermétiquement bouché.

24. SOLUTION D'HEMATOXYLINE FERRIQUE *(pour coloration à l'hématoxyline ferrique)* :

☠ **ATTENTION : L'Ethanol** est inflammable, manipulez ce produit loin d'une flamme.

Solution stock d'hématoxyline :

Hématoxyline (VWR 1.15938).................................... 10 g
Ethanol absolu (100 %) (C_2H_6O)................................ 1.000 ml

Mettez les 10 g d'hématoxyline en poudre dans une bouteille transparente de 1.000 ml. Ajoutez ensuite les 1.000 ml d'Ethanol à 100 %. Mélangez vigoureusement jusqu'à dissolution complète. Laissez « mûrir » la solution à la lumière pendant 2 semaines avant de l'utiliser.

CONSERVATION : 1 an dans un flacon transparent hermétiquement bouché.

☠ **ATTENTION : L'Acide Chlorhydrique** est extrêmement corrosif. Les vapeurs d'Acide Chlorhydrique sont toxiques. Ce produit est à manipuler avec une extrême prudence fenêtres ouvertes (ou sous une hotte chimique).

Solution stock de mordant :

Ammonium-fer (II) sulfate $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 . 6H_2O$............. 10 g
Ammonium-fer (III) sulfate $(NH_4)Fe(SO_4)_2 . 12H_2O$........... 10 g
Acide Chlorhydrique concentré (HCl 37 %)................. 10 ml
Eau Distillée.. jusqu'à 1.000 ml

Ne versez jamais d'Eau dans l'Acide Chlorhydrique. L'addition d'une faible quantité d'eau dans un acide produit suffisamment de chaleur pour faire exploser la bouteille**.**
Pesez les 10 g d'Ammonium-fer (II) sulfate (VWR 1.03792) et les 10 g d'Ammonium-fer (III) sulfate (VWR 1.03776). Dissolvez-les dans 800 ml d'eau distillée. Ajoutez lentement les 10 ml d'acide chlorhydrique concentré. Après refroidissement, portez **lentement** à 1.000 ml avec de l'eau distillée. L'addition rapide d'eau dans un acide produit suffisamment de chaleur pour faire exploser la bouteille**.**

CONSERVATION : 1 an dans un flacon transparent hermétiquement bouché.

Solution de travail d'hématoxyline ferrique :

Solution stock d'hématoxyline .... 80 ml
Solution stock de mordant.................... 80 ml

Mélangez un même volume de solution d'hématoxyline et de solution stock de mordant. Le mélange s'échauffera. Laissez refroidir avant usage (au moins 2 heures).

CONSERVATION : 1 semaine (et approximativement 200 préparations). Cette solution doit être contrôlée chaque jour : Mélangez une goutte d'eau du robinet alcaline avec une goute de solution de travail. Si une couleur bleu n'apparaît pas, préparez une nouvelle solution de travail.

25. SOLUTION SATUREE EN CHLORURE DE SODIUM *(Willis modifiée)* :

Chlorure de Sodium (NaCl)..250 g
Eau Distillée..1.000 ml

Chauffez pour dissoudre un maximum de NaCl. Laissez refroidir avant utilisation.

CONSERVATION : Quelques mois à température ambiante.

26.SOLUTION SATUREE EN SULFATE DE ZINC [33% p/v] *(Willis modifiée)* **:**

Sulfate de Zinc ($ZnSO_4$)..330 g
Eau Distillée..1.000 ml

Chauffez pour dissoudre un maximum de $ZnSO_4$. Laissez refroidir avant utilisation.

CONSERVATION : Quelques mois à température ambiante.

27.TÜRCK *(liquide de dilution pour numération des globules blancs)* **:**

Solution aqueuse de Bleu de Méthylène à 3 % (p/v):

[Ce réactif intervient aussi dans la préparation de glycérol bleu de méthylène pour Kato. Il peut aussi être remplacé par une solution aqueuse de violet de gentiane à 1 %] :

Bleu de Méthylène………………………… ………………………………………3 g
Eau Distillée...100 ml

Pilez de la poudre de Bleu de Méthylène dans un mortier propre et sec. Pesez 3 g de poudre. Transvasez dans un flacon brun et ajoutez 100 ml d'eau distillée. Mélangez jusqu'à dissolution.

CONSERVATION : Au moins 1 an dans un flacon brun hermétiquement bouché.
Filtrez avant emploi.

Préparation du liquide de TÜRCK :

☠ **ATTENTION : L'Acide Acétique Glacial** est inflammable, nocif et extrêmement corrosif. Il est aussi irritant pour les yeux. Manipulez ce produit avec précaution, loin d'une flamme, fenêtres ouvertes (ou sous hotte chimique).

Eau distillée...…………96 ml
Acide acétique glacial (CH_3COOH).. 5 ml
Solution aqueuse de Bleu de méthylène 1% ....1 ml

Ne versez jamais d'Eau dans l'Acide Acétique Glacial. L'addition d'une faible quantité d'eau dans un acide produit suffisamment de chaleur pour faire exploser la bouteille**.**

CONSERVATION : Quelques mois au **FRIGO en flacon brun**. Eliminez tous les 3 mois.

ANNEXES :

ANNEXE 1 : RELATION ENTRE LA VITESSE DE ROTATION D'UNE CENTRIFUGEUSE ET LA FORCE CENTRIFUGE

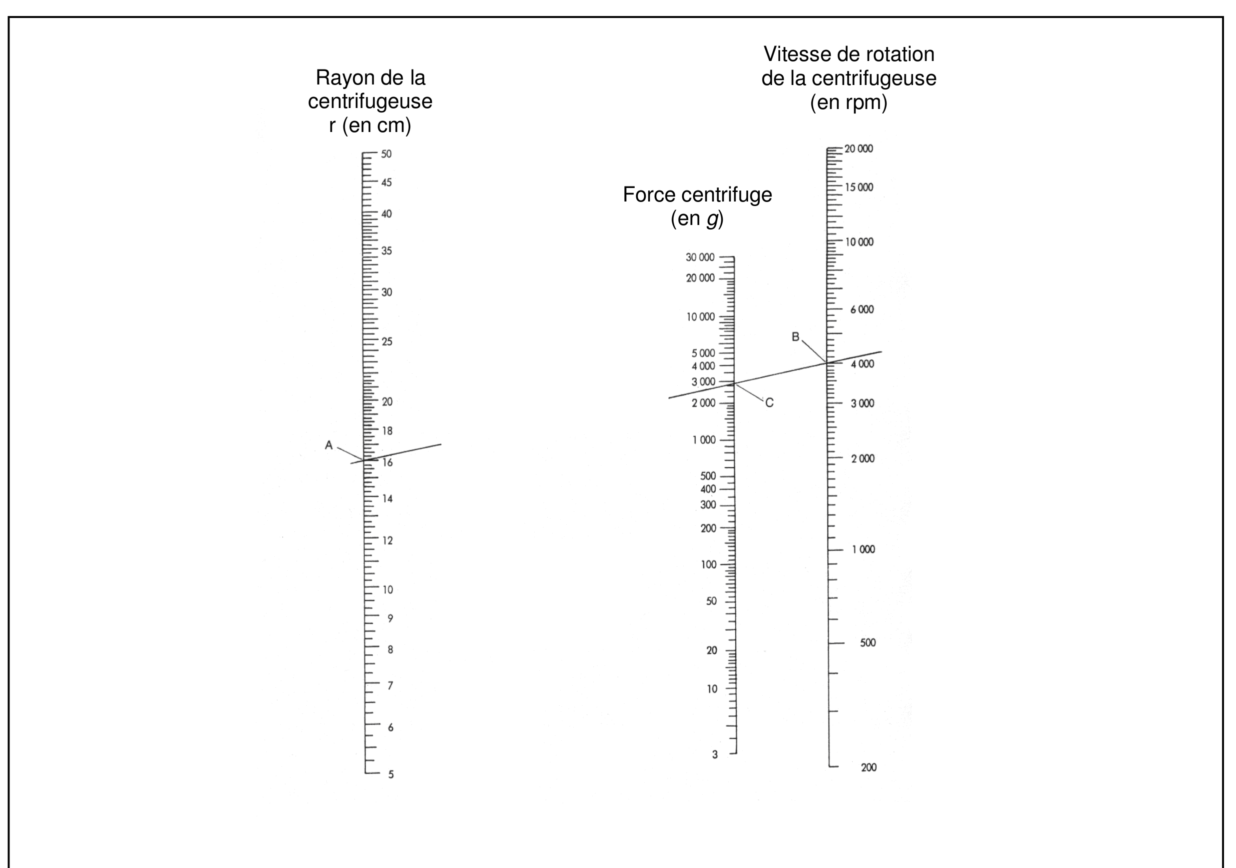
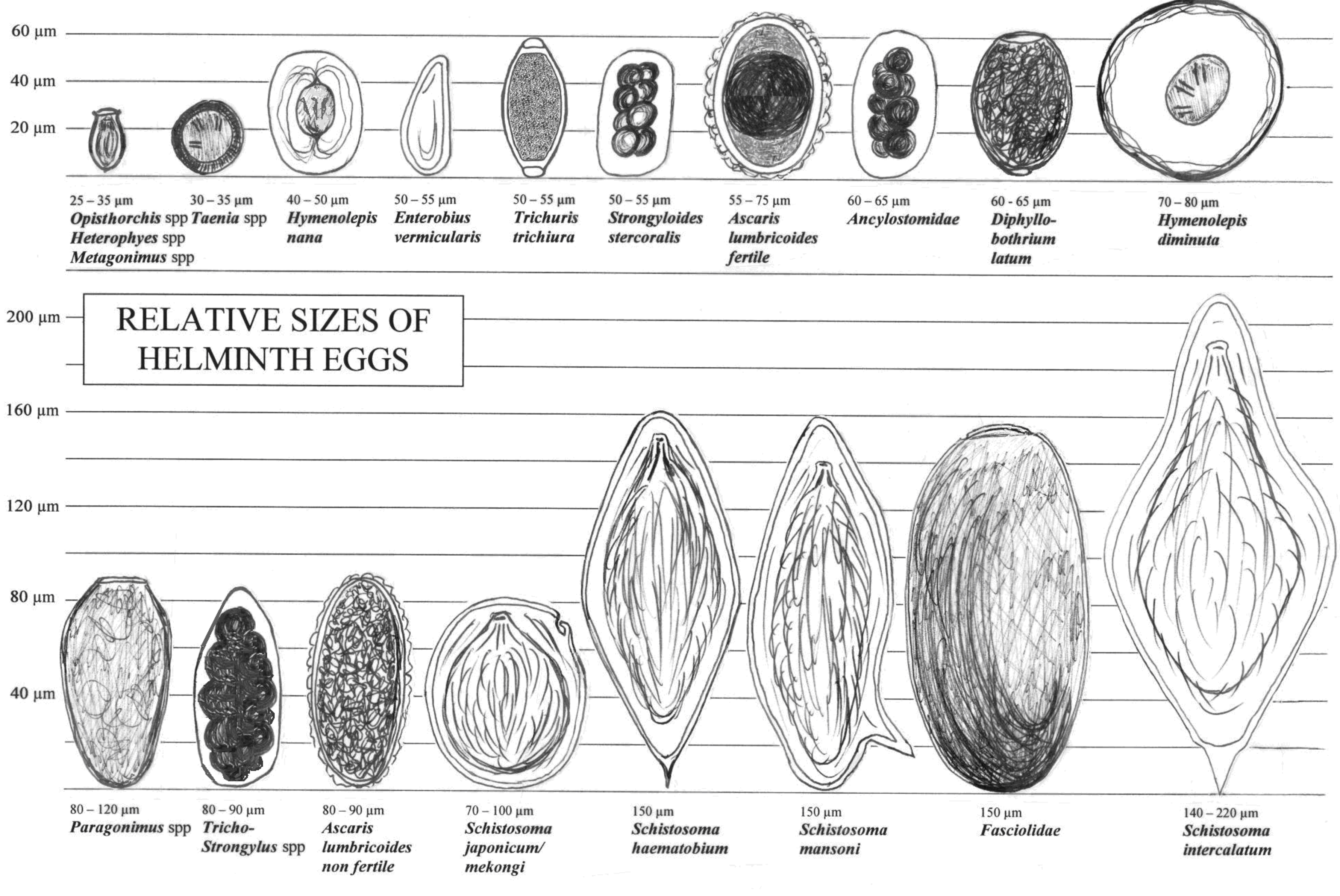


Figure : Relation entre la force centrifuge (*g*) et le nombre de tours par minutes (rpm) en fonction du rayon du rotor de la centrifugeuse (r). En reliant les deux valeurs r et *g* par une droite, on obtient à l'intersection avec la ligne vitesse de rotation de la centrifugeuse la valeur en rpm à utiliser pour cette centrifugeuse et ce rotor. La formule de relation entre g et rpm est :
$g = 0.00001118 \times r \times rpm^2$. (N.B. : le rayon de la centrifugeuse est à exprimer en cm)

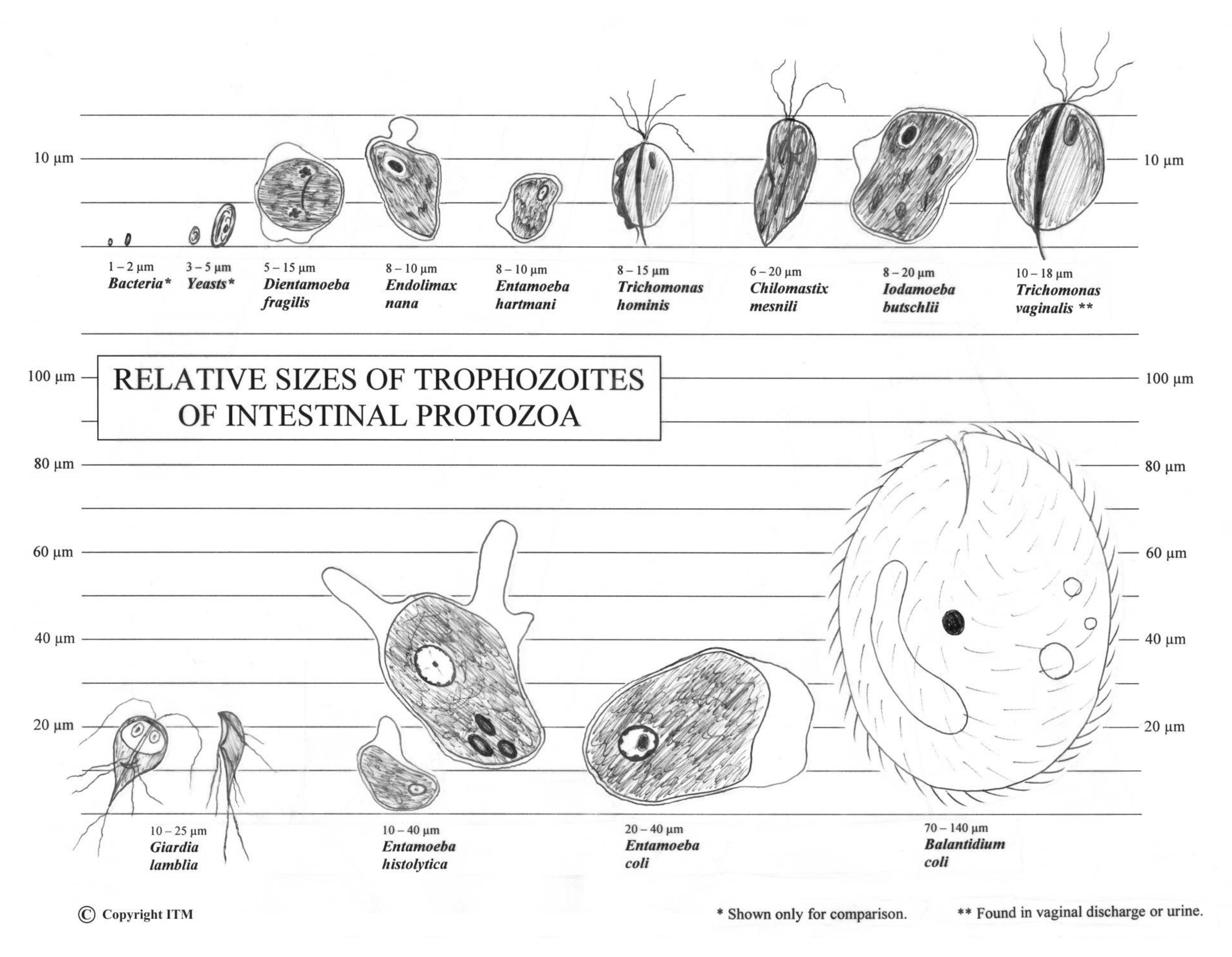
ANNEXE 2 : TABLEAU RECAPITULATIF DES ŒUFS D'HELMINTHES



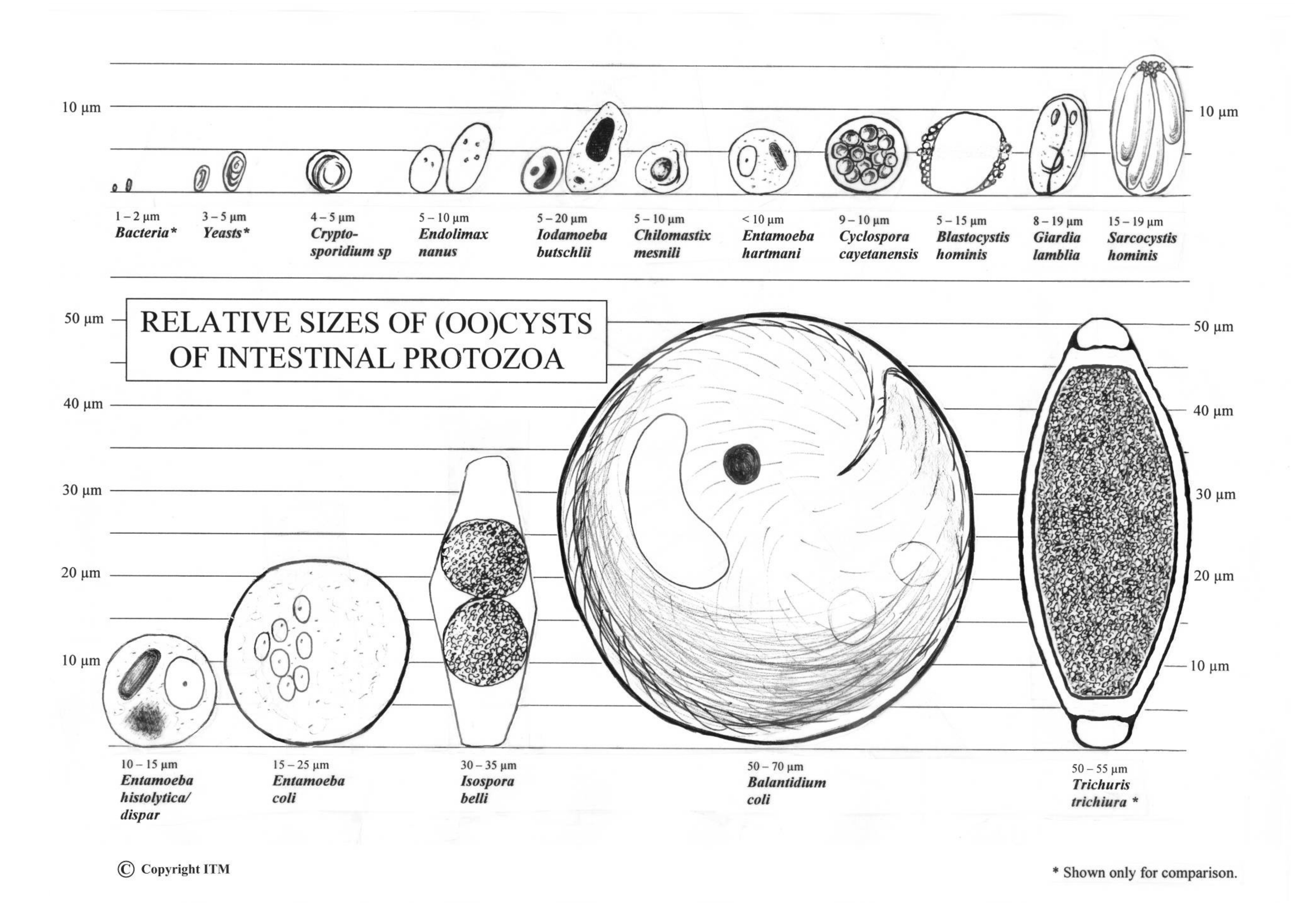
ANNEXE 3 : CARACTERISTIQUES IMPORTANTES POUR LE DIAGNOSTIC DES HELMINTHES PRARASITES (sauf filaires)

Organisme	Délais entre infestation et apparition des œufs dans les selles ou les urines (maturation du ver)	Estimation de la production journalière (œufs par femelle adulte)	Estimation de l'espérance de vie de l'helminthe
Ancylostoma duodenale	15 - 40 jours	5.000 - 22.000	1 - 9 ans
Anisakis spp.	sans objet	sans objet	
Ascaris lumbricoides	2 - 3 mois	200.000	1 - 3 ans (20 ans ?)
Capillaria aerophila			+/- 1 an
Capillaria hepatica	2 - 3 semaines		1 - 4 mois
Capillaria philippinensis			
Clonorchis sinensis	1 - 4 semaines	1.000 - 4.000	jusqu'à plus de 25 ans
Diphyllobothrium latum	30 - 45 jours	35.000 - 100.000	jusqu'à 30 ans
Echinococcus granulosus	sans objet	sans objet	sans objet
Enterobius vermicularis	+/- 3 semaines	+/- 500	jusqu'à 55 jours (mais auto infestation)
Fasciola gigantica	12 - 15 semaines	la plupart du temps stérile (faible production ?)	jusqu'à plus de 11 ans
Fasciola hepatica	4 - 10 semaines	25.000, (mais peu arrivent dans les selles)	jusqu'à plus de 25 ans
Fasciolopsis buski	12 - 20 semaines	+/- 16.000	+/- 6 mois
Hymenolepis diminuta	+/- 20 jours		5 - 7 semaines
Necator americanus	15 - 40 jours	3.000 - 6.000	4 - 20 ans
Paragonimus spp.	2 - 3 mois		10 - 20 ans
Schistosoma haematobium	54 - 84 jours	20 - 300	3 - 7 ans
Schistosoma intercalatum	50 - 60 jours	150 - 400	
Schistosoma japonicum	30 jours	1.500 - 3.500	jusqu'à plus de 25 ans
Schistosoma mansoni	25 - 60 jours	100 - 300	2 - 18 ans
Schistosoma mekongi	30 - 60 jours	1.500 - 3.500	jusqu'à plus de 25 ans
Strongyloides stercoralis	2 - 3 semaines		courte (mais autoinfestation)
Taenia saginata	10 - 12 semaines	jusqu'à 2.000.000	jusqu'à plus de 35 ans
Taenia solium	5 - 12 semaines		jusqu'à plus de 25 ans
Toxocara canis		sans objet	
Trichinella spp.		sans objet	jusqu'à 4 mois
Trichostrongylus spp.			
Trichuris trichiura	30 - 90 jours (130 ?)	3.000 - 20.000	1 - 4 ans (20 ans)
Vampirolepis nana	+/- 20 jours		quelques mois

ANNEXE 4 : TABLEAU RECAPITULATIF DES FORMES VEGETATIVES DES PROTOZOAIRES INTESTINAUX



ANNEXE 5 : TABLEAU RECAPITULATIF DES KYSTES (OU DES OOCYSTES) DES PROTOZOAIRES INTESTINAUX



ANNEXE 6 : TABLEAU COMPARATIF DES PRINCIPALES MICROFILAIRES HUMAINES

Espèces Caractéristiques	*Wuchereria bancrofti*	*Brugia malayi*	*Brugia timori*	*Loa loa*	*Mansonella ozzardi*	*Mansonella perstans*	*Mansonella streptocerca*	*Onchocerca volvulus*
Gaine	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Non	Non	Non
Diamètre	7,5 - 10 µm	5 – 6 µm	4,4 – 6,8 µm	5 – 7 µm	3 – 5 µm	3 – 5 µm	5 – 6 µm	5 – 9 µm
Longueur **Frottis et GE** **Formol** **Biopsie**	**260** [240 - 300] **300** [275 - 320] /	**220** [175 – 230] **270** [240 – 300] /	**290** [265 – 325] **360** [330 – 385] /	**240** [230 – 250] **280** [270 – 300] /	**180** [160 – 205] **225** [200 – 255] /	**195** [150 – 200] **200** [180 – 225] /	/ / **210** [180 – 240]	/ / **310** [280 – 320]
Queue	Effilée Sans noyaux	Effilée Avant dernier et dernier noyaux très espacés	Effilée Avant dernier et dernier noyaux très espacés	Effilée Noyaux jusqu'à l'extrémité	Pointue Sans noyaux	**Arrondie** Noyaux jusqu'à l'extrémité	**Arrondie** Noyaux jusqu'à l'extrémité « crosse d'évêque »	Effilée Sans noyaux Recourbée
Espace céphalique	Court : 1/1 Aussi long que large	Long : 2/1 2 x plus long que large	Très long : (2)3/1 (2) 3 x plus long que large	Court : 1/1 Aussi long que large	Très court	Très court	Très court	Long Plus long que large, souvent en forme de raquette de tennis
Caractéristiques	**Corps Noyaux** bien **individualisés** se terminant avant l'extrémité Gaine non colorée au Giemsa	2 noyaux à l'extrémité caudale Gaine **souvent colorée** en rose au Giemsa	2 noyaux à l'extrémité caudale Gaine **non colorée** au Giemsa	**Hernies** Rangée simple de noyaux jusqu'à l'extrémité Gaine non colorée au Giemsa	Queue **vide**	**4 noyaux** en file indienne à l'extrémité Noyaux angulaires. Dernier noyau plus gros ou plus foncé	**8 noyaux** en file indienne à l'extrémité	Queue pointue et vide, souvent recourbée. Noyaux peu visibles, premier et 2-3 derniers noyaux ovoïdes et souvent visibles

ANNEXE 7 : MORPHOLOGIE DES ELEMENTS SANGUINS SUR FROTTIS COLORE AU MAY-GRÜNWALD-GIEMSA

TYPE CELLULAIRE	TAILLE	NOYAU			CYTOPLASME		
GRANULOCYTES	µm	FORME	COULEUR	STRUCTURE DE LA CHROMATINE	QUANTITE	COULEUR	GRANULATIONS
LEUCOCYTES : GRANULOCYTES POLYMORPHONUCLEAIRES							
NEUTROPHILES NON SEGMENTES	12 – 15	En boudin ou en forme de fer à cheval, Incurvation centrale égale au maximum au tiers de la largeur des extrémités des lobes [7]	Bleu pourpre **clair**	Réseau peu épais	+++	Rose pâle	Très fines granulations, Rose ou violacée. (parfois absentes)
NEUTROPHILES SEGMENTES	12 – 15	2 à 5 lobes [8]	Bleu pourpre **foncé**	Réseau assez épais et grossier	+++	Rose	Très fines granulations, Rose ou rose violet
EOSINOPHILES	12 – 15	Le plus souvent à 2 lobes (pince-nez) (parfois 3 lobes)	Bleu pourpre	Epaisse, grossière	+++	Rose	Grosses granulations de calibre uniforme, Jaune orange, Grains accolés.
BASOPHILES	11 – 13	Lobes mal séparés (polymorphe) peu visible	Bleu pourpre	Epaisse, grossière, recouverte par les granules	+++	Rose pâle	Grosses granulations de calibre variable, Bleu très foncé, Grains bien séparés, peu nombreuses.

[7] Déviation à gauche de la formule d'Arneth : Les neutrophiles segmentés constituent la majorité des neutrophiles dans la formule leucocytaire normale. Une augmentation des non segmentés au-dessus de 16 % signifie une déviation à gauche (vers les formes plus jeunes). Cela se retrouve dans les processus inflammatoires, mais aussi dans des conditions de stress,…

[8] Déviation à droite de la formule d'Arneth : Contrairement à la déviation à gauche où les noyaux segmentés sont rares voire absents, la déviation à droite présente des neutrophiles hyper-segmentés, c'est-à-dire à cinq segments ou davantage. Une hyper-segmentation est caractéristique des anémies mégaloblastiques. A leur début, celles-ci révèlent sur 100 granulocytes plus d'un neutrophile à 6 segments, plus de 3 à 5 segments ou plus de 25 à 4 segments.

ANNEXE 7 : MORPHOLOGIE DES ELEMENTS SANGUINS SUR FROTTIS COLORE AU MAY-GRÜNWALD-GIEMSA

(suite)

TYPE CELLULAIRE	TAILLE	NOYAU			CYTOPLASME		
AGRANULOCYTES	µm	FORME	COULEUR	STRUCTURE DE LA CHROMATINE	QUANTITE	COULEUR	GRANULATIONS
LEUCOCYTES : AGRANULOCYTES MONOMORPHONUCLEAIRES							
PETIT LYMPHOCYTES	7 -10	Rond ou ovoïde Parfois échancré	Rouge pourpre **foncé**	Grandes masse d'intensité de coloration hétérogène ou pycnotique	(-) ou +	Bleu ciel (parfois presque invisible)	
GRAND LYMPHOCYTES	10 – 15	Rond ou ovoïde Parfois échancré	Rouge pourpre **clair**	Grandes masse formant des zones foncées et d'autres plus claires	++	Bleu ciel	Absentes ou quelques granules azurophiles (rose violet)
MONOCYTES	15 – 25	Rond, ovoïde ou en forme de haricot	Bleu violet clair	Fine, réseau ressemblant à une l'intérieur d'un éponge	+++ Contient généralement des vacuoles.	Gris ou gris bleu	Très fines granulation (poussière), azurophiles (rose violet)
ERYTHROCYTES	6,7 – 7,7				Disque biconcave, rose		Aucunes
TROMBOCYTES	1,5 – 2 (5)				Légèrement bleu		Rougeâtres

ABREVIATIONS

℃	Degré Celsius
Ac	Anticorps
Ag	Antigène
CAA	Circulating Anodic Antigen
CATT	Card Agglutination Test for Trypanosomiasis
CCA	Circulating Cathodic Antigen
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
cf.	Confer
cm	Centimètre
DEC	Diethylcarbamazine Citrate
EDTA	EthyleneDiamine Tetra-acetic Acid (anticoagulant)
E.I.A.	Enzyme ImmunoAssays
EITB	Enzyme-linked ImmunoelectroTransfer Blot
ELISA	Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
(En)	Anglais
ES	Excretor/Secretor
ES-Ag	Excretor/Secretor antigen
(Es)	Espagnol
Ex.	Exemple
(F)	Français
FL	Filariose lymphatique
g	Force centrifuge
g	Gramme
GB	Globules Blancs
GE	Goutte Epaisse
GR	Globules Rouges
HAP	HémAgglutination Passive
Hb	Hémoglobine
Ht	Hématocrite
ID	Immuno Diffusion
Ig	Immunoglobuline
IF	Immuno Fluorescent
IFAT	Immuno Fluorescent Antibody Test
IFI	Immuno-Fluorescence Indirecte
IHA	Indirect HémAgglutination
KIVI	Kit for I*n Vitro* Isolation (*Trypanosoma cruzi*)
LCR	Liquide Céphalo-Rachidien
LDH	Lactate DésHydrogénase
LMC	*Larva Migrans* Cutanée
LMO	*Larva migrans* Oculaire
LMV	*Larva Migrans* Viscérale
mf.	Microfilaire
MIF	Merthiolate Iode Formol
ml	Millilitre
mm	Millimètre
MST	Maladie Sexuellement Transmissible
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
OPG	Œufs par gramme de selles
PCR	Polumerase Chain Reaction
PK	Pyruvate Kinase.
PU	Prélèvement Urétral
PV	Prélèvement Vaginal
QBC	Quantitative Buffy Coat
RDC	Réaction de Déviation du Complément
rpm	Revolutions per minute
SAF	Sodium acetate – Acetic acid – Formalin (fixateur)
SNC	Système Nerveux Central
sp.	Espèce : (en faisant référence au parasite dont on parle)
spp.	Espèces : (en faisant référence à toutes les espèces du genre)
TES	Toxocara Excretory-Secretory antigens
THA	Trypanosomiase Humaine Africaine
µ	Micro
µl	Microlitre
µm	Micromètre
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine

QUELQUES RESOURCES INTERNET

Site de l'Institut de Médicine Tropicale :

http://www.itg.be/itg/GeneralSite/Generalpage.asp

Site de l'Institut de Médicine Tropicale (laboratoire clinique) :

http://www.itg.be/internet/clkb/index.htm?RND=981519759

Site de parasitologie humaine en néerlandais :

http://www.medischeparasitologie.nl

Site de parasitologie humaine (CDC) en anglais :

http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/

Site de parasitologie vétérinaire en français :

http://www.vet-lyon.fr/etu/copro/index.htm

Site destiné aux élèves se préparant à des carrières biomédicales en français

http://bioimage.free.fr/

Site de formation continue des biologistes en français :

http://www.bioforma.net/

Site de parasitologie humaine (Faculté de Pharmacie Lille)

http://arachosia.univ-lille2.fr/labos/parasito/Internat/courspar/

Site des parasitoses autochtone en France (CHU Rangueil, Toulouse) en français :

http://www.bmlweb.org/recco.html#Un%20peu%20de%20nomenclature

Site de malariologie (gouvernement australien) en français et en anglais :

http://www.rph.wa.gov.au/malaria.html

Site de parasitologie vétérinaire (anglais)

http://www.wormers-direct.co.uk/

Site de parasitologie vétérinaire (Merck) en anglais :

http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp?cfile=htm/bc/22600.htm

Site de parasitologie (medical chemical corporation) en anglais :

http://www.med-chem.com/Para/Index.htm

Site de mycologie en anglais :

http://www.doctorfungus.org/index.htm

Site général de laboratoire [lien avec parasitologie, hématologie etc.] (Australien) en anglais :

http://www.hoslink.com/MALARIA.HTM

Site consacré aux nouveaux tests de laboratoire

http://www.finddiagnostics.org/